Aus dem Institut für Veterinär-Hygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H. Hartwigk

UNTERSUCHUNGEN ÜBER EIGENSCHAFTEN VON COLIBAKTERIEN DIE AUS OEDEMKRANKHEITSVERDÄCHTIGEN SCHWEINEN ISOLIERT WURDEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Axel Thunert
Tierarzt aus Naumburg a.d.Saale

Berlin 1961
Journal-Nr. 340
1962

Aus dem Institut für Veterinär-Hygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H. Hartwigk

UNTERSUCHUNGEN ÜBER EIGENSCHAFTEN VON COLIBAKTERIEN DIE AUS OEDEMKRANKHEITSVERDÄCHTIGEN SCHWEINEN ISOLIERT WURDEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Axel Thunert
Tierarzt aus Naumburg a.d.Saale

Berlin 1961
Journal-Nr. 340

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. L.F. Müller

Referent: Prof. Dr. H. Hartwigk

Korreferent: Prof. Dr. H.-J. Heidrich

Tag der mündlichen Prüfung: 21.7.1961
Tag der Promotion: 8.4.1962

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung

II. Eigenschaften der bei oedemkranken Schweinen festgestellten Colistämme nach dem Schrifttum

III. Eigene Untersuchungen

A. Material

B. Methodik und Technik

1. Morphologisches und biochemisches Verhalten

2. Haemolyseverhalten

3. Prüfung der Antibiotikaresistenz

4. Prüfung der Vermehrungsfähigkeit im Zählverfahren

5. Verimpfung lebender Keime in bestimmten Zahlen von festen und flüssigen Nährböden an Mäusen

6. Toxinversuche an Mäusen

a. Prüfung der Keime auf Bildungsvermögen von Endo- und Ektotoxin

b. Untersuchungen des Endotoxins
Prüfung von Überstand und Bodensatz auf Toxin
Toxinhaltbarkeit
Neutralisationsversuche

7. Spermaagglutination

IV. Besprechung der Ergebnisse

V. Zusammenfassung

VI. Tabellen
Literaturverzeichnis
Lebenslauf

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0053

I. Einleitung

Die unter der Bezeichnung Oedemkrankheit der Schweine oder gut-oedema oder oedema-disease im Absatzalter auftretende Krankheit hat seit ihrem ersten Bekanntwerden in Irland 1938 eine große Bedeutung erlangt und führt in vielen Ländern der Welt zu erheblichen Ferkelverlusten.

Obwohl zahlreiche Untersuchungen zur Klärung der Aetiologie vorgenommen worden sind, besteht über die Ursachen keine einheitliche Auffassung, und es sind einander widersprechende Hypothesen über die Pathogenese aufgestellt worden.

Als mögliche Ursachen wurden angegeben: Bakterien, insbesondere toxisch wirkende Colikeime, ferner ein Virus oder andere, nicht bekannte Mikroorganismen.

Auch eine Genese auf allergischer Basis oder Fütterungsfehler, besonders ein Mangel an den Vitaminen A, B_1 und tierischem Eiweiß, wurden in Betracht gezogen.

In vielen Fällen wird auf die besondere Bedeutung betahaemolytischer Colibakterien hingewiesen, die mit großer Regelmäßigkeit bei dieser Erkrankung gefunden werden. In einigen Veröffentlichungen wird die Oedemkrankheit auch als spezifische Colitoxikose angesehen, weil angenommen wird, daß die Colibakterien toxische Wirkungen entfalten. Häufiger wird das Vorkommen von Colikeimen mit prädisponierenden Faktoren, wie Haltungs- und Fütterungsfehlern, Milieuwechsel, Impfung und Erkältung sowie anderen Möglichkeiten der Resistenzschwächung in Zusammenhang gebracht.

Es soll zu einer starken Vermehrung und Virulenzsteigerung der auch in gesunden Ferkeln nachgewiesenen haemolytischen Colibakterien kommen, die das Krankheitsbild einer Enterotoxaemie entstehen lassen.

Dem Institut wurde vom Staatlichen Vet. Untersuchungsamt Oldenburg eine Anzahl von Colistämmen zur weiteren Untersuchung überlassen. Die Stämme waren bei Untersuchungen von Material aus Schweinen, die nach klinischem und pathologischem Befund als oedemkrankheitsverdächtig bezeichnet wurden,

isoliert worden und zeigten in ihren Merkmalen eine weitgehende Übereinstimmung mit jenen Stämmen, die in der Literatur als mögliche Erreger der Oedemkrankheit beschrieben worden sind.

Meine Aufgabe sollte es nun sein, einige dieser Stämme auf ihre verschiedenen Eigenschaften hin zu untersuchen und mit Stämmen zu vergleichen, die aus gesunden Absatzschweinen gewonnen wurden. Dabei wurde besonderer Wert auf den Nachweis der Toxizität gelegt. Es sollten die verschiedensten Methoden zur Ermittlung sogenannter toxischer Colibakterien angewendet werden.

Eine serologische Typendifferenzierung war wegen des großen Aufwandes an Untersuchungsmaterial und Zeit nicht beabsichtigt.

II. Eigenschaften der bei oedemkranken Schweinen festgestellten Colistämme nach dem Schrifttum

Die über die Oedemkrankheit erschienenen Veröffentlichungen sind sehr zahlreich. Im deutschen Schrifttum sind gute Zusammenstellungen der wichtigsten Arbeiten von BÖRGER (7) und KÖHLER (39) erschienen.

Überblickt man die Literatur, so fällt auf, daß sich der weitaus größte Teil aller Veröffentlichungen mit der noch ungeklärten Aetiologie befaßt. Daneben nehmen die unbefriedigende Therapie, der unklare Übertragungsmodus (wenn eine Infektion angenommen wird) und die Rolle der haemolysierenden Coli mit ihrem Toxinbildungsvermögen einen großen Platz ein.

Das klinische Bild und die pathologischen Befunde wurden ferner in sehr vielen Schriften besprochen. Hier seien besonders die Autoren BÖRGER, HAGEN (29), JAHN (36) und KÖHLER genannt.

Nur sehr wenige Arbeiten befassen sich eingehender mit den Eigenschaften der gefundenen Colibakterien, wohl aus der Annahme heraus, daß diese nicht wesentlich von den bei anderen Erkrankungen gefundenen haemolytischen Colikeimen abweichen. Aus diesem Grunde sollen auch Arbeiten, die sich nicht direkt

mit der Oedemkrankheit der Schweine befassen, für die einzelnen Abschnitte aber wichtig sind, mit angeführt werden.

Bakterien des Tribus Escherichia coli kommen bei fast allen Säugetieren in den unteren Abschnitten des Verdauungstraktes als Saprophyten vor (NISSLE (47)), aber auch nur dort sind sie normalerweise anzutreffen. Jedes Auftreten ausserhalb des Darmes (in den Harnwegen, in der Bauchhöhle, im Euter, im Blut und den Organen) wird im Sinne einer pathogenen Wirkung gedeutet. Über die Frage, in welchem Umfang das Vorkommen auch in den oberen Darmabschnitten als abnorm betrachtet werden muss, besteht noch keine Klarheit. Der Dünndarm ist normalerweise frei von Colibakterien, es wird daher eine Besiedlung mit diesen Keimen nicht mehr als physiologisch angesehen. Bei Enteritiden findet man das Colibakterium oft im Dünndarm. Jedoch ist es auch bei klinisch gesunden Tieren festgestellt worden; andererseits wurde es bei Darmerkrankungen wieder nicht gefunden.

GROSS (27) wies im Kot gesunder Tiere haemolysierende und toxische Colibakterien nach.

ROBERTS u. VALLENY (51) berichten, daß haemolysierende Colibakterien normalerweise in geringer Zahl im Dickdarm vorkommen.

Versuche, durch hohe Außentemperatur, Zuckergaben u.a. eine künstliche Aszension und damit eine Erkrankung zu erreichen, führten zum Ziel (HAHN, KLOCMAN u. MORO (3o)). Der Aufstieg war aber die Folge und nicht die Ursache der Schädigung. Andere Autoren wiederum erreichten trotz stärkerer Läsionen des Dünndarms keine Erkrankungen (BOUCKAERT, OYAERT u. SIERENS (11)).

Die bei der Oedemkrankheit festgestellten haemolysierenden Coli kommen regelmäßig im Dünndarm und den Darmlymphknoten vor (STAMATOVIC u.MIKAJLOVIC (58), FLÜCKIGER u. HOFER (21) u.a.), daneben bei generalisierten Formen in Leber, Nieren und Milz. Vielen Autoren glückte die Gewinnung von Reinkulturen aus dem Darm (GREGORY (24), ZELLER u. KIELWEIN (64), STAMATOVIC u. MIKAJLOVIC u.a.).

Durch diese Funde und andere, früher angestellte Untersuchungen besteht die allgemeine Überzeugung, daß die Anwesenheit

von Colikeimen im Dünndarm als pathogen anzusehen ist.

Auch der Begriff der Pathogenität ist nicht unumstritten, da Colikeime sowohl als normale Symbionten innerhalb als auch als pathogene Keime außerhalb des Dickdarms vorkommen. Zu Beginn der Coliforschung überhaupt bestand die Ansicht, diesen Keimen eine ausgesprochene Tendenz zur Variabilität der biochemischen und serologischen Eigenschaften zuzusprechen (ADAM (1), NISSLE, BAUMGÄRTEL (4) und ROLLE (53)). LODENKÄMPER (43) hält eine Variantenbildung für möglich.

Mit den verschiedensten Methoden wurde versucht, diese Variantenbildung herbeizuführen und pathogene von apathogenen Stämmen zu trennen (ADAM, NISSLE, GREGORY).
MÜLLER und TÖRSCHNER (46) versuchten es mit verschiedenen bekannten biochemischen und anderen Methoden. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß das biochemische Verhalten, die Antibiotikaresistenz und der Tierversuch keine genaue Differenzierung zwischen pathogenen und apathogenen Colibakterien zulassen.
KRÖGER und GILLESEN (41) prüften die Saccharose-Vergärung, ohne Anhaltspunkte zur Unterscheidung zu finden.
Versuche mit Indikatorplatten von KRAUS (40) mit TTC-Bouillon misslangen genauso wie die von KRÖGER und GILLESEN geprüfte Coli-Widaluntersuchung.
Die Untersuchungen von KAUFFMANN (37), durch die die serologische Typendifferenzierung der Colibakterien eingeführt wurde, stellten eine praktische, wenn auch nicht absolute Konstanz ihres Verhaltens fest. Danach sind alle Colibakterien bedingt pathogen. Nicht alle Typen sind gleich pathogen oder apathogen, sondern bestimmte Typen besitzen eine spezielle Pathogenität einem Lebewesen gegenüber.

H. SCHMIDT (56) untersuchte die Beziehungen zwischen dem kompletten Glukolipoidantigen und den Wuchsformen der Kolonien. Er fand, daß dieses Antigen sowohl in Glatt- als auch in Rauhformen vorkommt. Daher läßt die Wuchsform nicht auf das quantitative und qualitative Vorhandensein des Antigens schließen. SCHMIDT weist darauf hin, wie auch übrigens SCHREIER und RUTHE (57), daß Stämme des gleichen serologischen Types in ihrem biochemischen Verhalten verschieden sein können. Bei Untersuchungen WOLF's (63) erwiesen sich alle

Rauhformen als apathogen. Doch bildeten auch einige Glattformen kein Toxin.
Nach FEY (2o) sind bekapselte Formen wesentlich mäusetoxischer als unbekapselte.

E.SCHMIDT (55) versuchte mit Hilfe der Penicillinresistenz toxische von atoxischen Coli zu trennen. Er hatte keinen Erfolg. Behandlungsversuche mit antibiotischen Mitteln bei oedemkranken Tieren zeigten wechselnde Erfolge (ROBERTS u. VALLENY, HAGEN, HIDIROGLOU (34), GREUNER (26), FLÜCKIGER u. HOFER, AUSTVOLL (2), LUKE u. GORDON (44)).
Oft wurde die Antibiotikatherapie in Kombination mit anderen Arzneimitteln vorgenommen.

Auf den engen Zusammenhang der Vermehrungsfähigkeit von Colibakterien mit Pathogenität und Toxizität wurde des öfteren, auch bei der Untersuchung anderer, von E.coli verursachter Erkrankungen hingewiesen.
LODENKÄMPER nennt als auslösendes Moment für eine Intoxikation unter anderem eine hohe Virulenz.
HARVEY u. CARNE (32) weisen auf die Verbindung zwischen vermehrten E.coli-Keimen und Ausbruch der Krankheiten hin. An anderer Stelle heißt es: "Völlig klar ist es, daß das Vermögen der virulenten Colistämme eng verbunden ist mit der Lebensfähigkeit der Organismen und nicht direkt mit der Anwesenheit eines toxischen Lipopolisaccharids", ferner: "Die Beziehungen zwischen Wirt und Parasit sind dynamische und die Fähigkeit bestimmter Stämme, die Oberhand zu bekommen, hängt vom Wirt-Parasitverhältnis und von äußeren Faktoren ab".
REICHEL (5o) macht für die bei der Oedemkrankheit entstehende Dysbakterie die starke Colibakterienvermehrung verantwortlich.
ZELLER u. KIELWEIN wiesen nach, daß bei der Oedemkrankheit immer eine Dysbakterie, die sich durch Überhandnehmen der haemolytischen Colistämme äußert, vorliegt.
Nach GREGORY's Meinung spielen ungewöhnliche Darmkeime eine Rolle, die durch starke Vermehrung eine derartige Menge von Toxin bilden, daß deren Absorption die Krankheit auslöst. Er fand in allen Fällen ß-haemolysierende Coli in Reinkultur.

In vielen Arbeiten wird versucht, die Pathogenität der E.coli

im Tierversuch durch Einverleibung lebender Keime auf verschiedene Weise festzustellen.
BRANDL (12) erzielte durch orale und rektale Applikation keine Erkrankung.
Bei BRAUN, RESEMANN u. STÖCKLE (13) war durch intraperitoneale Injektion von lebenden Keimen keine Unterscheidung möglich, ebensowenig durch perorale Eingabe bei verschiedenen Tierarten. BRONSCH u. KÄMPF (14) erzielten durch perorale Gaben wohl eine Vermehrung, jedoch keine Erkrankung (Intoxikation).
Dasselbe beobachteten ZELLER u. KIELWEIN. Ein mit Kultur gefüttertes Ferkel blieb gesund.
BOUCKAERT, OYAERT u. SIERENS stellten Infektionsversuche an Ferkeln per os an und durch Einspritzung von Kultur in den Dünndarm nach Laparotomie. Es traten keine Erkrankungen auf.
Ähnlich arbeiteten CATEL u. PALLASKE (15), wobei nur geringgradige Darmveränderungen festgestellt werden konnten, die möglicherweise auf die Laparotomie zurückzuführen waren.
Infektionsversuche mit gleichzeitigem Stress, die HESS u. SUTER (33) an Absatzferkeln durchführten, hatten ein negatives Ergebnis.
LODENKÄMPER verfütterte gewaschenes Colisediment an Mäuse, ohne Erkrankungen zu erreichen.
Mit subkutaner Applikation hatte WOLF keine Erfolge.
GROSS erzielte Infiltrate und Nekrosen, bei BOTZ (1o) kam es zu Todesfällen bei einer Verimpfung von 1oo Millionen und mehr Keimen.
Im Gegensatz dazu wurden bei intraperitonealen und intravenösen Injektionen fast übereinstimmend eine hohe Mortalität beobachtet (BOTZ, WIEDERHOLD (62), ULBRICH (6o), ERSKINE u.a. (19), WOLF, PLANTENGA (49)).
Über das Toxinbildungsvermögen von E.coli liegen viele bestätigende Berichte vor, die auch die Wirkungsweise und Zusammensetzung ziemlich klar festlegen. Nicht völlig geklärt ist hingegen die Frage, ob es sich hierbei nur um ein an den Bakterienkörper gebundenes Endotoxin oder noch um ein weiteres, aus Stoffwechselprodukten bestehendes Ektotoxin handelt.
Ebenso ist nicht erkennbar, ob das Toxinbildungsvermögen nur

auf pathogene Stämme begrenzt ist. Einen Vergleich hierüber in größerem Rahmen anzustellen, wird völlig unmöglich gemacht durch eine große Anzahl verschiedener Toxingewinnungsmethoden und Nachweise.
Toxingewinnungsversuche sind schon sehr früh vorgenommen und die Ergebnisse dieser Versuche im Zusammenhang mit anderen Erkrankungen, an denen Colibakterien beteiligt waren, überprüft worden.
VINCENT (61) untersuchte beimpfte Bouillon mit verschieden langer Bebrütungsdauer. Er fand ein enterotropes Endotoxin in 15 - 2o Tage alten Kulturen. Das Toxin war thermostabil und führte zu profusen, tödlichen Durchfällen. Ausserdem stellte er ein thermolabiles, in jungen Kulturen vorhandenes Ektotoxin fest, das nervöse Symptome hervorrief. Beide Toxine haben immunisatorisch nichts miteinander zu tun.
MAGHERU u. CREANGA (45) kamen zu gleichen Ergebnissen.
Auch bei GOLDSCHMIDT (22) erwies sich das keimfreie 24stündige Bouillonfiltrat als toxisch.
Dagegen stehen viele Beobachtungen, die die Existenz eines separaten Ektotoxins verneinen (PLANTENGA (48), ENGLERT (18), CIANTINI (16), ULBRICH u. WIEDERHOLD).
Auch DEMNITZ u. SCHOLZ (17) und weiterhin HOHORST (35) konnten nicht zwischen Endo- u. Ektotoxin unterscheiden. Ihre nach Art des Ektotoxins gewonnenen Kulturfiltrate zeigten enterotrope Wirkungen.
Eine eingehendere Bestimmung des Endotoxins gelang BOIVIN u. MESROBEANOU (8). Sie isolierten aus den Bakterienleibern einen Glukolipoidkomplex und ein Toxin von Proteincharakter. Nach den Untersuchungen von KAUFFMANN stellt der Glukolipoidkomplex das O-Antigen dar, und dieses ist dem Endotoxin gleichzusetzen.
Im Laufe der Zeit wurden noch eine Reihe anderer Verfahren zur Endotoxinherstellung außer der von BOIVIN u. MESROBEANOU benutzten Trichloressigsäureextraktion bekannt, wie das wiederholte Gefrieren und Wiederauftauen (GRASSET (23)), die Trocknung und Pulverisierung und die Aqua dest.-extraktion von BESREDKA (5).
Verschiedene Zusätze zum Abtöten und Extrahieren wie Phenol (WOLF), Alkohol, Aether u. H_2O_2 (BRANDL), und die Extraktion

in heißem Wasser (KHOUVINE u. SOETERS (38) wurden verwendet.

In dem Bestreben, eine wirksame Serumtherapie gegen die Oedemkrankheit zu finden, wurden mehrere Toxin- Antitoxin-Untersuchungen vorgenommen.
LEMCKE, BELLIS u. HIRSCH (42) teilten mit, daß polyvalentes Coli-Antiserum die Ferkel schützt, wenn sie nicht vor dem 18. Lebenstag geimpft wurden. Bei bereits bestehender Krankheit führte die Seruminjektion zu plötzlichem anaphylaxieartigem Tod. Dieser konnte jedoch vermieden werden, wenn vor der eigentlichen Heilimpfung kleinste Serumdosen zur Desensibilisierung injiziert wurden. Die Symptome der Krankheit führten die Autoren auf eine Überempfindlichkeit gegen die vom Patienten selbst gebildeten Coli-Antikörper zurück, wobei die Darmbesiedlung durch bestimmte Colitypen zumindest als Vorbedingung betrachtet wird.
GREUNER empfiehlt die 2malige Injektion von 5 ml einer stallspezifischen Coli-Oedem-Vakzine.
Das Serum eines hyperimunisierten Versuchsferkels neutralisierte bei Versuchen von BOUCKAERT, OYAERT u. SIERENS das homologe Toxin in vitro. Nach 24 Stunden bei 37° C war es atoxisch. In vivo wurde es jedoch nur wenig beeinflußt.
Bei HESS u. SUTER hatten Versuche mit spezifischen Serum- und Vakzineimpfungen zur Prophylaxe und Therapie kein eindeutiges Ergebnis.
BOSOLD (9) hatte mit SV 5o und Suisan keine Heilerfolge.
ZELLER u. KIELWEIN immunisierten ein Kaninchen mit einem der von ihnen untersuchten 9 beta-haemolytischen Colistämmen. Alle stammten von oedemkranken Schweinen. Das Serum agglutinierte mit allen 9 Stämmen.
TIMONEY (59) stellte fest, daß der krankheitserregende Faktor antigen wirksam ist. Mit Schweinen gewonnenes Antiserum schützte gegen experimentelle Oedemkrankheit.

Frühere Arbeiten, die sich speziell mit der Wirksamkeit von antitoxischen Coliseren beschäftigen, aber nicht direkt eine Beziehung zur Oedemkrankheit des Schweines haben, seien nur am Rande erwähnt:
HALLAUER (31) fand bei homologen Stämmen und Seren einen Titer

von 1 : 248 bis 1 : 1o ooo, sonst weniger als 1 : 1oo. Eine sichere Neutralisierung erreichte er nur mit homologen Seren, was für eine Monovalenz und sehr verschiedene Endotoxine bei den einzelnen Colistämmen spricht. Da partielle Antigengemeinschaften vorkamen, ließ sich aber auch eine gewisse Immunität gegenüber heterologen Stämmen erzielen.
HARVEY u. CARNE konnten durch Kreuzagglutination die Stämme serologisch unterscheiden.
Bei Versuchen von ROBERTS R.S. (52) schützte das Serum eines Kalbes, das mit Endotoxin in steigenden Dosen geimpft wurde, gegen den Tod durch intraperitoneal verabreichte lebende Kulturen des gleichen Stammes.
Nach SCHMIDT H. haben die antitoxischen Seren auch eine antiinfektiöse Wirkung.
ULBRICH stellte ebenfalls fest, daß gegen die Injektion einer Colikultur in der Regel nur dasjenige Serum schützt, dessen Produktionsstamm die gleiche Antigenstruktur wie die Kultur besitzt. Einige Seren schützten aber auch gut gegen Stämme, die sie nicht agglutinierten. Daraus folgert ULBRICH, daß Coliseren auch gegen heterologe Colistämme eine gute antibakterielle Wirksamkeit besitzen können, dagegen aber unwirksam sind gegen die entsprechenden heterologen Endotoxine.

Die Stabilität der Toxine wurde von mehreren Untersuchern geprüft.
Die von ULBRICH untersuchten Stämme behielten ihre Toxizität über einen Zeitraum von 4 Jahren.
Auch die von GROSS als pathogen isolierten Stämme zeigten nach einem Jahr die gleiche Wirkung.
WOLF stellte bei einem von ihm gewonnenen Toxin eine Haltbarkeit von wenigstens 5 Monaten fest.
KAUFFMANN's differenzierte Colistämme veränderten sich in 1o Jahren nicht.
ROLLE u. KALICH (54) wie auch BOTZ berichteten, daß die von ihnen untersuchten Colibakterien bei der Züchtung auf künstlichen Nährböden recht bald ihre Toxizität verloren.
GREGORY konnte nach wenigen Passagen keine Oedemkrankheit mehr reproduzieren.

Da die oben angeführten Toxine nur an Tieren - meist wurden Mäuse, aber auch Meerschweinchen, Katzen und Hunde benutzt -

ausgewertet werden können, wurde nach anderen, einfacheren und weniger zeitraubenden Methoden gesucht, um die Toxizität festzustellen. Von diesen soll auf die Spermaagglutination näher eingegangen werden.
ROLLE u. KALICH versuchten eine Methode zu finden, die es ermöglichte, die Toxizität der Stämme schneller und sicherer nachzuweisen. Einige Colistämme besaßen die Eigenschaft, Spermazellen zu agglutinieren. Die Autoren beobachteten, daß in 95% der Fälle, in denen die Agglutination deutlich positiv war, die Coliaufschwemmungen auch für Mäuse toxisch waren.
In einigen anderen Schriften (BAUER (3) u.a.) wird dieses Verfahren erwähnt. Eine größere experimentelle Arbeit hierüber hat BOTZ angefertigt.
Er kommt zu dem Ergebnis, daß die Spermaagglutination von der Dichte der Bakterienaufschwemmung abhängig ist. Da die meisten von ihm untersuchten atoxischen, spermanegativen Colistämme kein Kapselantigen besaßen, die spermapositiven aber K-plus Formen waren, nimmt BOTZ an, daß die spermaagglutinierende Eigenschaft an das K-Antigen bzw. L-Antigen gebunden ist. In seinen Untersuchungen konnte BOTZ jedoch keinen Unterschied zwischen toxischen und atoxischen L-Antigenhaltigen Colistämmen feststellen.
Die meisten spermaagglutinierenden Stämme töteten Mäuse in 12 bis 72 Stunden.
ROLLE u. KALICH, sowie BOTZ berichten von einem schnellen Verlust der toxischen und einem langsameren der spermaagglutinierenden Eigenschaft. Alle spermapositiven Stämme verhielten sich saccharosepositiv, während die schwach toxischen und atoxischen Colistämme keine Saccharose fermentierten.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material

Es wurden insgesamt 36 Colistämme untersucht, die in 3 Gruppen zusammengefaßt wurden. Zur 1. Gruppe gehörten 2o Stämme, die im Staatl. Vet. Untersuchungsamt Oldenburg aus oedemkrankheitsverdächtigen Schweinen isoliert wurden. Diese Stämme wurden bis zum Beginn meiner Untersuchungen im Institut aufbewahrt. Von den 4 Stämmen der 2. Gruppe stammten je zwei von Gastroenteritis- und Oedemkrankheitsfällen von Schweinen. Die Stämme wurden im hiesigen Institut isoliert und in der Institutssammlung gehalten.
Die Stämme der 1. Gruppe erhielten die Bezeichnung O 17 - O 22 und O 5o - O 63,
die der 2. Gruppe I 1, I 2 (Gastroenteritis); I 13 u. I 14 (Oedemkrankheit).
Als Vergleichsstämme wurden aus dem Kot von klinisch gesunden Absatzschweinen 12 Normalcolistämme gewonnen und differenziert. Sie bildeten die 3. Gruppe und erhielten die Bezeichnung N 31 - N 42.
Alle Stämme wurden für die Dauer der Arbeit auf gewöhnlichem Schrägagar gehalten, regelmäßig überimpft und auf Reinheit geprüft. Als weitere Nährböden wurden 5%iger Frischblutagar, Conradi-Drigalskiagar und gewöhnliche Bouillon verwendet.

B. Methodik und Technik.

1. Morphologisches und biochemisches Verhalten.

Die Stämme aller drei Gruppen wurden zunächst auf ihre Merkmale untersucht und die Ergebnisse mit den zum Teil erzielten früheren Untersuchungsergebnissen verglichen. Im einzelnen wurde geprüft:
Beweglichkeit im hängenden Tropfen, Kolonieform (R u. S) auf den verschiedenen Nährböden, Keimform mit Hilfe der Färbung nach Gram. Trübung, Bodensatz und Kahmhaut in gewöhnlicher Bouillon. Indolbildung in Trypsinbouillon, Methylrotprobe; Bildung von Acetylmethylcarbinol mittels der Voges-Proskauer-Reaktion; Verflüssigung von Gelatine und Vergärung von Laktose, Saccharose, Mannit und Salicin;

Wachstumshemmung in Natriumcitratbouillon nach Koser, H_2S- und Gasbildung auf Kliglerschrägagar, Hämolyse auf Frischblutplatten. Die Ergebnisse der Prüfungen sind in den Tabellen I und II zusammengestellt.
Die Einordnung der Stämme wurde nach der Aufstellung von BERGEY vorgenommen.
In den Gruppen 1 und 2 erwiesen sich 7 Stämme als Escherichia coli (I 13; O 17 bis O 22),
3 Stämme waren E.coliähnlich, zeigten jedoch keine Nitratreduktion (I 14; O 5o) und Beweglichkeit (I 2).
2 Stämme konnten als E.coli var. neapolitanum differenziert werden. (O 51 u. O 55).
8 Stämme waren E.coli var. communiorähnlich, zeigten jedoch keine Beweglichkeit (O 52, O 53, O 54, O 57, O 58, O 6o, O 61 u. O 62).
4 Stämme waren E.coli var. acidi lacticiähnlich, zeigten jedoch keine Beweglichkeit (I 1; O 56 u. O 59) und Nitratreduktion (O 63).
In der 3. Gruppe (Colistämme aus gesunden Absatzschweinen) befanden sich 2 E.colistämme (N 36 u. N 38);
1 Stamm E.coli var. neapolitanum (N 34);
4 Stämme waren E.coliähnlich, zeigten aber keine Beweglichkeit (N 4o, N 42) und Nitratreduktion (N 33 u. N 41);
1 Stamm E.coli var. acidi lactici (N 32).
4 Stämme waren diesem ähnlich, waren jedoch unbeweglich (N 31, N 39) und reduzierten keine Nitratbouillon (N 35 u. N 37).
Eine serologische Differenzierung wurde nicht durchgeführt.
Alle sonstigen technischen Daten für die einzelnen Versuchsreihen sind in den Abschnitten diesen vorangestellt.

2. Haemolyseverhalten.

Die von vielen Verfassern hervorgehobene Eigenschaft der bei oedemkranken Tieren gefundenen Colibakterien, Blutkörperchen aufzulösen, sollte im Verlauf der Arbeit genauer geprüft werden, um zu sehen, ob sich im Verhalten der einzelnen Stämme bei den verschiedenen Passagen und der längeren Aufbewahrung Änderungen ergeben.
Die Haemolyse wurde auf Blutagarplatten mit einer Lupe be-

obachtet. Nicht vorhandene Haemolyse wurde mit γ bezeichnet, Farbstoffschwund bei vorhandenem Stroma als α. War auch dieses aufgelöst, so lag eine ß-Haemolyse vor.

Ergebnisse:

Im Verlauf von 2 Jahren änderten sich die haemolytischen Eigenschaften der einzelnen Stämme nicht. Bei der Prüfung aus den Dauerkulturröhrchen war keine Schwächung oder Verstärkung festzustellen. Die 4 γ-haemolytischen Stämme I 1, I 2, O 2o u. O 63 änderten ihr Verhalten bis auf Stamm I 2 nie. Der α-haemolytische Stamm O 55 zeigte nur nach Herauszüchtung aus Organausstrichen gestorbener Mäuse eine ß-Haemolyse; wurden Subkulturen angelegt, wiesen diese wieder eine α-Haemolyse auf. Ähnlich verhielt sich der Stamm I 2, der bei Organausstrichen eine ß-Haemolyse zeigte, in Subkulturen jedoch wieder γ-haemolytisch wurde. Das aus den Stämmen gewonnene Toxin griff in keinem Falle Blut an.
Die an den Normalcolistämmen vorgenommenen Prüfungen ergaben in allen Fällen eine γ-Haemolyse.

3. Prüfung der Antibiotikaresistenz.

In die Untersuchungen der verschiedenen Verhaltensweisen von aus oedemkrankheitsverdächtigen Schweinen gewonnenen Colibakterien wurde auch eine qualitative und quantitative Prüfung der Antibiotikaresistenz einbezogen, trotz aller gegen sie möglichen Einwände. Diese einfachen in-vitro-Untersuchungen sollten nur einen groben Überblick über die Wirksamkeit der gebräuchlichsten und in der Praxis verwandten Medikamente geben. Ob die Stämme durch frühere Antibiotikagaben beeinflußt worden waren, konnte nicht festgestellt werden.
Es wurden untersucht: Die Resistenz gegen Streptomycin, Oxytetracyclin und Chloramphenicol qualitativ und quantitativ; Penicillin, Tetracyclin und Erythromycin nur qualitativ.

Technik:

Die qualitativen Prüfungen wurden auf gewöhnlichem Agar mit einem Antibiotika-Testbesteck (Heinrich Mack; Illertissen/Bayern) vorgenommen, wobei die Hemmzone bestimmt wurde.
Für die quantitativen Prüfungen wurde der Verdünnungstest nach HABS (28) gewählt.

Von jedem Antibiotikum wurden je 5o mg in lo ml aqua redest. gelöst. Für die Verdünnungsreihen wurden je 5 ml gewöhnliche Bouillon in enge sterile Agglutinationsröhrchen pipettiert und diese 3o Min. im Dampftopf sterilisiert. Von den lo ml Antibiotikalösungen wurden je o,1 ml in die Röhrchen der ersten Reihe des Agglutinationsständers gebracht. Das entspricht o,5 mg oder 5oo γ oder loo γ /ml. Die restliche Antibiotikamenge wurde auf das Doppelte mit aqua redest. verdünnt und wieder o,1 ml in die Gläser der 2. Reihe pipettiert (5oγ oder loγ /ml) usw.
Es entstanden so Verdünnungen von:

loo γ /ml;	5oγ /ml;	25 γ /ml;	12,5 γ /ml;	6,3 γ /ml;	3,2 γ /ml;
1. Reihe	2. Reihe	3. Reihe	4. Reihe	5. Reihe	6. Reihe

1,6 γ /ml;	o,8 γ /ml.
7. Reihe	8. Reihe.

Dann wurde quer zu den Verdünnungsreihen mit den einzelnen Stämmen beimpft durch Zugabe von je einem Tropfen einer 24-stündigen Bouillonkultur. Die Ständer wurden nach der Beimpfung gut geschüttelt und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Als Kontrollen dienten beimpfte Röhrchen mit gleichem Durchmesser ohne Antibiotikazusatz.
Es wurde darauf verzichtet, von jeder Kultur und jedem Stamm mehrere parallele Versuchsreihen anzusetzen, um den Verbrauch an Nährbodenmaterial nicht ins Unermessliche ansteigen zu lassen.
Nach 24 Stunden wurden die Reihen abgelesen und mit den Kontrollen verglichen, deren Trübung +++ entsprach. Bei vollständig gehemmtem Wachstum blieb die Bouillon klar (-).

Ergebnisse:

a. Resistenzprüfung gegen Oxytetracyclin (Terramycin Cela). Tabelle IIIa und b.

Das Bild der Tabelle, sowohl der beiden ersten Gruppen, als auch der aus gesunden Schweinen gewonnenen Stämme zeigt ein stark uneinheitliches Bild. Gut die Hälfte aller Stämme ist resistent gegen Mengen von loo γ /ml. Unter einer Dosis von 12,5 γ /ml sind fast alle Stämme resistent.
Erhebliche Unterschiede waren bei den Stämmen der drei Gruppen nicht festzustellen.

b. Resistenzprüfung gegen Streptomycin (Dihydrostreptomycin Bayer). Tabelle IVa und b.
Hier zeigen die Tabellen größere Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen. Die Normalcoli sind wesentlich resistenter und zeigen auch mit den höchsten Antibiotika-Dosen keine Hemmung des Wachstums. Bei den beiden ersten Gruppen ist nur der Stamm O 19 ebenso resistent wie die normalen Colistämme. Alle anderen Colistämme werden durch 100 γ /ml gehemmt, die meisten schon durch 50 und 25 γ /ml.

c. Resistenzprüfung gegen Chloramphenicol (Paraxin Boehringer). Tabelle Va und b.
Mit wenigen Ausnahmen werden hier alle Stämme durch 25 γ /ml im Wachstum voll gehemmt. Auch bei den geringeren Chloramphenicol-Konzentrationen ist ein deutlicher Trübungsunterschied zu den Kontrollröhrchen vorhanden. Bis auf eine etwas stärkere Empfindlichkeit verhalten sich die Normalcolistämme ähnlich wie die der beiden Gruppen aus pathologischem Material isolierter Colistämme.
Mit diesem Ergebnis stimmen die zwei Jahre früher an den Stämmen der ersten zwei Gruppen im Blättchentest gemachten qualitativen Prüfungen überein (Tabelle VI).

4. Prüfung der Vermehrungsfähigkeit im Zählverfahren.

In einer Reihe von Arbeiten, die sich mit dem Bakterium coli beschäftigen, wird als ein Unterscheidungsmerkmal zwischen toxischen und atoxischen Colistämmen die veränderte oder größere Vermehrungsrate der toxischen oder "wildgewordenen" angegeben. Mit Hilfe des Auszählverfahrens sollte versucht werden, zwischen den untersuchten Gruppen Unterschiede festzustellen.

Technik:
Alle 36 Stämme wurden zur Aktivierung auf Blutplatten überimpft. Nach 24 Stunden wurden Agglutinationsröhrchen mit steriler gewöhnlicher Bouillon mit einer Normalöse der Blutplattenkultur beimpft.
Nach 24-stündiger Bebrütung wurden von den Bouillonröhrchen Verdünnungsreihen angelegt: Sterile Agglutinationsröhrchen wurden mit je 1 ml steriler, physiologischer Kochsalzlösung

beschickt. In das 1. Röhrchen wurde 1 ml aufgeschüttelte Bouillon pipettiert, mit der Kochsalzlösung gemischt und 1 ml der Mischung in das nächste Röhrchen gebracht, sodaß Verdünnungsreihen von 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 usw. entstanden. Mit der Verdünnung 1:16 wurde die Zeiß-Thomakammer beschickt. Nach 1o Minuten Wartezeit wurden 5o Elementarquadrate ausgezählt und der Durchschnittswert der Quadrate bestimmt. Aus diesem ließ sich die Keimzahl pro mm^3 in der Bouillon errechnen.
Darauf wurde die Quantität Bouillon für 1o Millionen Keime errechnet und diese Menge mit einer o,1 ml Pipette in 1o ml keimfreie Bouillon gebracht. Die Keimmenge wurde stets nach vorherigem Aufschütteln entnommen, die Pipette an sterilem Zellstoff abgetupft und dann mit der Spitze eben eintauchend in die sterile Bouillon entleert. Die Röhrchen wurden bei 37°C im Brutschrank gehalten.
Von diesen, in den Versuchsbedingungen (Keimzahl, Nährmedium, Zeit und Temperatur) möglichst gleichgehaltenen Röhrchen, wurden nach 24 u. 48 Stunden wieder Verdünnungsreihen angelegt und ausgezählt.

Ergebnisse:

Da die Zählungen nur 2mal in 48 Stunden vorgenommen wurden, sind keine genaueren Aussagen über die Vermehrungsrate der einzelnen Stämme und Vergleiche zwischen diesen möglich. Im generellen Verhalten der Gruppen zeigen sich jedoch Unterschiede.
So erreichen die Stämme der Gruppen 1 u. 2 schon bei der 1. Nachprüfung sehr hohe Werte, die sich bei der folgenden nicht mehr erheblich erhöhen oder schon wieder absinken. Bei den Stämmen der 3. Gruppe geht die Entwicklung langsamer vor sich und ist auch innerhalb der Gruppe ausgeglichener. Sie erreichen erst am 2. Tage Werte, die um oder noch unter denen der ersten Gruppen für den 1. Tag liegen. Aber auch für sie kann gesagt werden, daß das Wachstum nach dem 1. Tage nur noch geringfügig zugenommen hat. (Tabellen VIIa u. b).

5. Verimpfung lebender Keime in bestimmten Zahlen.

Die Pathogenität der verschiedenen Stämme wurde an Mäusen

durch die Verimpfung lebender Keime geprüft. Dabei wurden, um größere Keimzahlunterschiede auszuschließen, alle injizierten Mengen ausgezählt und auf bestimmte Keimzahlen festgelegt. Als Injektionsart wurde die intraperitoneale Injektion gewählt, vergleichsweise wurde auch die subkutane Injektion durchgeführt, da über den Einfluß der Injektionsarten aus der Literatur kein einheitliches Bild zu erlangen war. Die intravenöse Applikation konnte nicht angewendet werden, da bei den hierzu notwendigen feinlumigen Kanülen die Gefahr der Verstopfung sehr groß war.

Technik:

a. Lebendkeimverimpfungen von festen Nährböden (Agar- und Blutagarplattenabschwemmung subkutan u. intraperitoneal).

Die verwendeten Nährböden, Agar- u. Blutagarplatten, wurden mit Kultur der einzelnen Stämme aus den Schrägagarröhrchen beimpft und auf den Platten mit sterilen Drigalskispateln ausgestrichen. Die Nährböden wurden bei 37°C 24 Stunden bebrütet.

Dann wurden die gewachsenen Kolonien mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Zur Keimzahlbestimmung wurde die von den Platten aufgenommene Menge in fortlaufender geometrischer Reihe verdünnt (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 usw.). Von einer geeigneten Verdünnung wurde danach die Zeiß-Thomakammer zur Zählung beschickt. War das mikroskopische Bild unbefriedigend, zu viele oder zu wenige Keime im Blickfeld, wurde eine höhere oder tiefere Verdünnungsstufe gewählt. Ausgezählt wurde mit Objektiv 45 und Binokular 10 oder 12,5.

Nach einer Wartezeit von 10 Minuten wurden 50 Elementarquadrate ausgezählt, addiert und die Durchschnittszahl bestimmt. Diese mit der Länge und Breite des Elementarquadrats ($1/400mm^2$) und der Höhe der Zählkammer (1/10mm) multipliziert, ergab die Keimzahl der ausgezählten Verdünnung in $1mm^3$. Rechnerisch wurde die Anzahl der Keime in den anderen Verdünnungsstufen festgelegt und diejenige Stufe zur Verimpfung bestimmt, die bei den festgelegten Keimzahlen (10,15; 100,150; 200 u. 300 Millionen) keine zu großen, aber auch praktisch verabreichbare Mengen ergaben (0,1 - 0,3 ml).

Die Injektion erfolgte jeweils mit gleichen Mengen an 2 Mäuse von 18 bis 22 g unter die Rückenhaut bzw. in die Bauchhöhle. Die Mäuse wurden zunächst 14 Tage, später eine Woche bei guter Pflege und Fütterung beobachtet.
In 6 Versuchsreihen wurde die Pathogenität der Keime geprüft. Die Versuche wurden abgebrochen, wenn in einer Reihe die Ergebnisse negativ waren, um mit den zur Verfügung stehenden Tieren sparsam umzugehen.

1. Versuchsreihe: 6 Stämme (O 58 - O 63)
Agarplattenabschwemmungen, ausgezählt bei einer Verdünnung von 1:256. An je 2 Mäuse wurden 1o u. 15 Millionen Keime s.c. appliziert.
Ergebnis: Keine Beeinträchtigung. Nur ganz vereinzelt wurden Kahlstellen, Hautrötungen oder -nekrosen an der Einstichstelle festgestellt.

2. Versuchsreihe: 6 Stämme (O 17, O 18, I 1, I 2, I 13, I 14)
Agarplattenabschwemmungen, ausgezählt bei einer Verdünnung von 1:256 u. 1:128. Je 2 Mäuse erhielten 1oo u. 15o Millionen Keime s.c.
Ergebnis: Keine Beeinträchtigung, jedoch zahlreicher und stärker auftretende Hautnekrosen an der Einstichstelle.

3. Versuchsreihe: 6 Stämme (O 19, O 2o, O 21, O 22, O 5o, O 51)
Agarplattenabschwemmungen, ausgezählt bei einer Verdünnung von 1:256. Je 2 Mäuse erhielten 2oo u. 3oo Millionen Keime s.c.
Ergebnis: Keine Beeinträchtigung, aber Hautnekrosen wie bei der 2. Versuchsreihe.

4. Versuch: 1 Stamm (O 22)
Frischblutagarabschwemmung (ß-Haemolyse), ausgezählt bei einer Verdünnung von 1:256. Je 2 Mäuse wurden mit 2oo u. 3oo Millionen Keimen s.c. injiziert.
Ergebnis: Keine Beeinträchtigung, jedoch Hautnekrosen.

Während dieser Versuche starben von insgesamt 76 im Versuch stehenden Mäusen 4 Tiere. Es ergaben sich keine Anhaltspunkte dafür, daß die Todesfälle auf die erfolgten Injektionen zurückzuführen waren.

5. Versuchsreihe: 10 Stämme (I 2, I 14, 0 17 - 0 20, 0 52, 0 53, 0 55, 0 57)
Agarplattenabschwemmungen, bei einer Verdünnung von 1:128 ausgezählt. Je 2 Mäusen wurden 100 Millionen Keime ip. verabreicht.
Ergebnis: Von 20 geimpften Mäusen starben 5 Tiere. Der Stamm 0 55 tötete beide Mäuse in 16 Stunden, die Stämme 0 19, I 2 und I 14 je eine Maus in 17, 18 und 60 Stunden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle VIII dargestellt.

6. Versuchsreihe: 10 Stämme (I 1, I 13, 0 21, 0 22, 0 58 - 0 63)
Blutagarabschwemmungen, bei einer Verdünnung von 1:256 ausgezählt. Je 2 Mäusen wurden 100 Millionen ip. injiziert.

Ergebnis: Lediglich der Stamm 0 60 tötete 2 Mäuse in 13 Stunden. Von den mit Keimsuspensionen der Stämme 0 21, 0 22 und I 13 geimpften Tieren starb je 1 nach 15 bzw. 72 Stunden (siehe auch Tabelle IX).

b. Lebendkeimverimpfung von Bouillonkulturen

5 ml gewöhnliche, sterile Bouillon wurden mit 1 Normalöse Colikultur aus den Schrägagarröhrchen beimpft und 24 Stunden bebrütet. Die Technik der Verdünnung, Auszählung und Verimpfung wurde wie vorher beschrieben ausgeführt.
Es wurde in 7 Versuchsreihen die Pathogenität der Keime geprüft.

1. Versuchsreihe: 14 Stämme (0 50 - 0 63)
Bouillonkulturen wurden bei einer Verdünnung von 1:16 ausgezählt. Je 2 Mäusen wurden 100 Millionen Keime sc. verabreicht.
Ergebnis: Es starb von 28 im Versuch stehenden Mäusen je eine der Stämme 0 62 nach 18 Stunden und 0 63 nach 113 Stunden (Tabelle X).
Damit verhielten sich die mit Bouillon sc. geimpften Mäuse ähnlich wie die mit Agarabschwemmungen sc. injizierten Tiere.

2. Versuchsreihe: Alle Stämme der Gruppen 1 u. 2.
Wie 1. Die Mengen wurden jedoch intraperitoneal gegeben.
Ergebnis: Mit 100 Millionen Keimen aus Bouillonkulturen

konnten bei 17 von 24 Stämmen aus pathologischem Material sicher 2 Mäuse getötet werden (O 17 - O 22, O 52, O 53, O 55, O 58 - O 63; I 13 u. I 14). Bei den Stämmen O 54, O 56, O 57, I 1 und I 2 starb je 1 Maus. Lediglich bei 2 Stämmen (O 50 und O 51) blieb ein Erfolg aus. Die meisten Tiere starben in 10 bis 18 Stunden p.i., es traten jedoch auch spätere Todesfälle auf. Die Ergebnisse sowie die injizierten Bouillonmengen sind in der Tabelle XI aufgeführt.

3. Versuchsreihe: Alle Stämme der Gruppen 1 u. 2.
Zur Bestimmung der dosis letalis minima (d.l.m.) wurden 50 Millionen Keime ip. verabreicht.
Ergebnis: 50 Millionen Keime aus Bouillonkulturen ip. verabreicht, töteten nur noch bei 5 Stämmen (O 52, O 53, O 58, O 61, O 63) beide Mäuse. Je eine Maus starb bei den Stämmen O 17, O 20, O 54, O 56, O 59, O 62, I 1, I 2 und I 14. Bei 10 Stämmen wirkte die Keimmenge nicht mehr tödlich.

4. Versuchsreihe: Alle Stämme der Gruppen 1 u. 2.
Zur Bestimmung der dosis letalis minima wurden 25 Millionen Keime ip. injiziert.
Ergebnis: Bei dieser Keimzahl traten nur noch wenige Todesfälle auf. Von 8 Stämmen (O 18, O 52, O 58, O 59, O 61, O 62, O 63 und I 1) starb je 1 Maus. Nur der Stamm O 53 wirkte auch bei dieser Anzahl von Keimen für 2 Mäuse tödlich. Bei 15 Stämmen blieben die Mäuse gesund.
Die Ergebnisse der 2., 3. und 4. Versuchsreihe sowie die injizierten Bouillonmengen sind in der Tabelle XI aufgeführt.

5. - 7. Versuchsreihe: Alle Stämme der Gruppe 3.
Die Versuchsreihen 5, 6 und 7 wurden analog den Reihen 2, 3 und 4 ausgeführt.
Ergebnis: Von den 12 aus gesunden Schweinen isolierten Colistämmen tötete nur 1 Stamm sicher mit 100 Millionen Keimen 2 Mäuse (N 40). Bei den Stämmen N 37, N 39 und N 41 starb je 1 Tier. Bei Keimzahlen von 50 und 25 Millionen starb von 48 ip. geimpften Mäusen nur eine. Die Ergebnisse sind in der Tabelle XII zusammengestellt.

Während die sc. geimpften Mäuse kein verändertes Verhalten zeigten, ergab sich bei den mit Agarabschwemmungen und

Bouillonkulturen intraperitoneal geimpften Mäusen ein anderes Bild:
Schon wenige Minuten nach der Ihjektion machten die Tiere einen kranken Eindruck: Apathie, frequente, oberflächliche Atmung, keine Futter- und Wasseraufnahme; oft ein gekrümmter Rücken, unsicherer Gang, Taumeln. Aber auch Erregungszustände wurden hin und wieder beobachtet. Das Fell wurde grau und struppig; Blässe und Zyanosen zeigten sich besonders am Kopf, Schwanz und den Gließmaßenenden. Die Augenlider verklebten. Nach 20 bis 60 Minuten traten starke, wässrige Durchfälle und später zähe Afterverklebungen auf. Der Tod wurde meistens nach 12 bis 18 Stunden festgestellt, jedoch kamen auch frühere oder spätere Todesfälle vor. Überstanden die Mäuse diese Zeit, so folgte in leichten Fällen eine schnelle Erholung, bei schweren Erkrankungen ein Siechtum von 2 bis 3 Tagen, das dann noch zum Tode oder langsamer Erholung führte.
Bei der Zerlegung war das Bauchfell gelblich bis hellrosa, die Leber meistens vergrößert und oft brüchig. Häufig wurden starke Gefäßinjektionen gesehen. Typisch waren der mit Futterbrei gefüllte und aufgegaste Magen, der gelbbraune bis schwarzrote, glasige Dünndarm, die mäßig bis sehr stark vergrößerte Milz mit abgerundeten Rändern und die meist dunkelroten, vergrößerten Kniefaltenlymphknoten.
Oft waren auch die Nieren vergrößert. Vereinzelt wurde vermehrte Flüssigkeit in der Bauchhöhle festgestellt. Colon und Brustraum waren ohne Besonderheiten.
Von Leber, Milz und Nieren der verstorbenen Tiere wurden Abimpfungen auf Frischblut- und Conradi-Drigalskiplatten sowie Färbungen nach Gram durchgeführt.
Mit großer Regelmäßigkeit wuchsen auf den Platten mittelgroße, glattglänzende, runde, grauweiße Kolonien, die auf den Frischblutplatten die gleiche Haemolyse hervorriefen wie der Ausgangsstamm bzw. zu einer Verstärkung führten. Auf den Conradi-Drigalskiplatten zeigten sich mittelgroße, gewölbte, runde, glattrandige, glänzende, graurosafarbene, laktosepositive Kolonien. Vielfach wurden Reinkulturen erzielt.
Von diesen Platten oder deren Subkulturen wurden zu Beginn der Versuche Differentialnährböden beimpft. Dabei zeigte

sich, daß es sich um die gleichen Stämme, die injiziert wurden, handelte. In den nach Gram gefärbten Ausstrichen wurden in mehr oder weniger großer Zahl, von massenhaft bis vereinzelt, hellrote, plumpe, kurze Stäbchen mit gerundeten Enden gefunden.

6. Toxinversuche an Mäusen.

Es wurde das Toxinbildungsvermögen aller 36 Stämme geprüft. Dabei interessierte zugleich, ob eine Unterscheidung von Endo- und Ektotoxin möglich ist, ob das Endotoxin fest an die Zelltrümmer gebunden bleibt, oder in das Suspensionsmedium diffundiert, über welchen Zeitraum hinweg die Toxine wirksam bleiben und ob eine Neutralisation durch in Kaninchen gewonnene Antiseren möglich ist.

a. Prüfung der Keime auf Bildungsvermögen von Endo- und Ektotoxin.

Zur Endotoxingewinnung wurde die von GRASSET eingeführte Methode des wiederholten Gefrierens und Wiederauftauens benutzt.

Technik:

Sterile Erlenmeyerkolben wurden mit 5o ml gewöhnlicher Nährbouillon beschickt und 1/2 Stunde im Dampftopf sterilisiert. Jeder Kolben wurde mit 2 Normalösen Kultur aus den Schrägagarröhrchen beimpft und bei 37°C bebrütet.
Nach 24, 48 oder 72 Stunden - um den Einfluß der Bebrütungsdauer zu prüfen - wurden die Kölbchen 2o Minuten bei 1o ooo UpM zentrifugiert.
Der Überstand wurde abgegossen und durch Seitz EK-Filter Nr. 3 filtriert.
Der Bodensatz je eines Kolbens wurde in ca. 1o ml physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und in sterile, langhalsige Meßkolben mit Glasschliffstopfen von 5o ml Inhalt gegeben. Die Stopfen wurden mit Vakuumfett versehen und eingedreht. Darüber kam ein Gummifingerling, der mit einem Packring möglichst fest an den Kolbenhals gepresst wurde.
Das Gefrieren erfolgte in einem hohen Thermosgefäß mit zerkleinertem Kohlensäureeis und Brennspiritus.
Nach einer Gefrierdauer von 2o Minuten bei ca. -7o°C wurden

die Kolben in ein Wasserbad von +37°C zum Auftauen gestellt. Nach der Erwärmung auf diese Temperatur kamen die Kolben wieder in die Gefriermasse.
Zum Abtöten der Colikeime genügte in der Regel ein 12 - 15maliger Wechsel von Gefrieren und Wiederauftauen. In einigen Fällen musste beides noch weiter wiederholt werden.
Nach dieser Prozedur wurden den Kolben mit sterilen Kapillaren ca. o,3 ml Suspension entnommen und auf Conradi-Drigalskiagarplatten ausgespatelt, um die Keimfreiheit zu prüfen.
Die Gefrierkolben blieben über Nacht im Thermosgefäß.
Zeigte sich am nächsten Tag noch ein Bewuchs der Platten, wurde die Behandlung mit wechselnden Temperaturen fortgesetzt. Wurde kein Wachstum festgestellt, was in den allermeisten Fällen zutraf, wurden die Suspensionen mit großlumigen, sterilen Kapillaren aufgenommen, in Reagenzgläser gebracht und mit physiol. Kochsalzlösung auf eine Dichte eingestellt, die einer Trübung von 6 ml einer 1%igen wässrigen Bariumchloridlösung in 94 ml einer 1%igen Schwefelsäure (Dichte VI) entsprach.
Die Suspensionen, wie auch die Bouillonfiltrate wurden im Kühlschrank bei +4°C aufbewahrt.
Bei den Vorversuchen konnte folgendes festgestellt werden:
Die Dauer der Bebrütungszeit (24, 48 oder 72 Stunden) ergibt keine messbaren Unterschiede der Toxineigenschaften oder -mengen.
Eine vorhergehende Blutplattenpassage erhöht die Toxizität nicht.
Wird die klimatische Beugung bei Keimen in Bouillon durchgeführt, kommt es noch zu einem starken Wachstum selbst bei 25maligem Gefrieren und Auftauen.
Befinden sich die Keime in physiol. Kochsalzlösung, so reicht ein 12 - 15maliger Temperaturwechsel zur Abtötung der Keime fast immer aus.
Wurden die Keime nach dem Zentrifugieren in destilliertes Wasser verbracht, konnte schon nach 1omaligem Gefrieren kein Wachstum mehr festgestellt werden.
Reagenzgläser mit paraffiniertem Stopfen genügen den Ansprüchen der klimatischen Beugung nicht, da der Stopfen durch die Kälte eingesaugt und durch das Auftauen herausge-

trieben wird. Dadurch ist die Gefahr des Eindringens von Spiritus sehr groß, wobei die Suspension flockig ausfällt. Befinden sich größere Flüssigkeitsmengen in den Gläsern, so ist durch die starken Temperaturunterschiede ein Zerspringen kaum zu vermeiden.
Bei dickwandigen Zentrifugengläsern ist die Temperaturresistenz größer. Doch gelten für die Gläser die gleichen Bedingungen wie für die Reagenzgläser. Auch durch paraffinierte Stopfen getriebene Nägel und Abdichtungen mit Tesafilm bringen keine Verbesserung für den Verschluß.
5o ml Messkolben mit gefettetem Glasstopfen, Fingerling und Packring abgedichtet, bleiben auch beim Überspülen des Gefäßes durch die Kältemischung dicht. Die Temperaturresistenz ist gut, solange die Kolben nicht mehr als bis zur Hälfte gefüllt werden.
Im Verlauf des Verfahrens nimmt die Dichte der Keimsuspension ab und ergibt eine leicht transparente, nicht flockige Flüssigkeit. Die Einstellung auf ein Vergleichsröhrchen der Dichte VI wurde daher immer nach dem Temperaturwechselprozess vorgenommen.

Als Ektotoxin wurde das durch 3-und 13tägiges Bebrüten gewonnene keimfreie Bouillonfiltrat benutzt, das in einigen Fällen noch auf 1/4 des Ausgangsvolumen eingeengt wurde.
Die gewonnenen Toxine wurden wie folgt an 18 - 22 g schweren Mäusen geprüft:
Zur Fixierung der Tiere diente ein gebräuchliches Proberöhrchen-Versand-Holz, in dessen Boden ein kleines Loch zur Belüftung gebohrt wurde. In den um einen Nagel drehbaren und mit einem Blechhaken verschließbaren Deckel wurde ein kommaförmiger Schlitz gesägt, der beim Zuschieben des Deckels als Öffnung für den Mäuseschwanz diente. Das Holz wurde mit einer Haltevorrichtung (Zwinge oder Schraube) am Tisch befestigt.
Da die Tiere meist von allein in die vorgehaltene Öffnung laufen, ist eine Narkose mit Aether nicht nötig. Sie werden am Schwanz festgehalten, wobei die Öffnung des Kästchens verschlossen wird.
Zur einwandfreien Injektion haben sich 1 ml Constantaspritzen und sehr feine V 2 A Kanülen gut bewährt. Vor der Verabrei-

chung in eine der Schwanzvenen wurde der Schwanz mit einem in Xylol getränkten Wattebausch abgerieben. Auf eine sorgfältige Entfernung der Luft aus der Spritze und Kanüle ist zu achten. Bei einiger Übung bereitet die intravenöse Applikationsart keine Schwierigkeiten.
Sofort nach der Injektion wurden die Tiere gekennzeichnet und 1 Woche bei guter Fütterung und Pflege in Gläsern gehalten.
Zur Kontrolle wurde je 4 Mäusen o,6 u. o,8 ml physiol. Kochsalzlösung intravenös verabreicht. Alle Tiere blieben gesund.
Folgende Versuche wurden durchgeführt:

Prüfung auf Bildungsvermögen von Endotoxin.
Es wurden alle 36 Stämme untersucht.
Zum Toxinnachweis wurde, wie schon erwähnt, eine Suspension hergestellt, die auf die Vergleichsdichte VI eingestellt war und in Mengen von o,2, o,4, o,6, o,8 ml intravenös an je 2 Mäuse verabreicht wurde.
Ergebnis: Mit Hilfe der Gefrier- und Wiederauftaumethode war es möglich, deutliche Unterschiede im Endotoxin-Bildungsvermögen der einzelnen Stämme und Stammgruppen festzustellen. Teilt man die toxische Wirkung in Anlehnung an die verabreichten Dosen in

1. sehr stark (letal noch bei o,2 ml intravenös)
2. stark (" " " o,4 " ")
3. mäßig stark (" " " o,6 " ")
4. schwach (" " " o,8 " ")

und 5. atoxisch (keine Todesfälle)

ein, so ergibt sich, daß von den 24 Stämmen der Gruppen 1 u. 2
11 Stämme sehr stark toxisch (I 13, I 14, 0 17, 0 19, 0 21, 0 22, 0 54, 0 56, 0 57, 0 59, 0 63),
3 " stark (I 2, 0 61, 0 62),
2 " mäßig stark (0 2o, 0 53),
4 " schwach toxisch (I 1, 0 18, 0 52, 0 6o) wirkten, und 4 Stämme atoxisch (0 51, 0 52, 0 55, 0 58) waren.
Auffallend war die hohe Zahl der Stämme, die auch noch bei einer Dosis von o,2 ml intravenös sicher tödlich wirkten.
Bei den aus gesunden Schweinen isolierten Colistämmen traten nur vereinzelte Todesfälle auf, die in ihrer Unregelmäßigkeit auf nicht ausgeglichene Versuchstiere zurückzuführen

sind und daher nur bedingt Schlüsse auf eine Toxizität einzelner Stämme gestatten, im Vergleich zu den toxischen Stämmen aber den Unterschied klar erkennen lassen.
Siehe auch Tabelle VIIIa u. b.

Nach den Endotoxinverimpfungen wurde an den Mäusen ein ziemlich ähnliches Verhalten wie nach den Lebendkeiminjektionen festgestellt. Jedoch war der gesamte Ablauf der Erkrankung bei den Endotoxinimpfungen schneller. Durchfälle traten z.B. schon nach 1o bis 2o Min. auf.
Auch sehr frühe Todesfälle, schon nach 15 Min. bis 4 Stunden, waren häufiger. Verbunden damit traten mitunter nervöse Symptome auf, wie Schreckhaftigkeit, plötzliches Herumspringen mit anschließendem Sekundentod, Manegebewegungen, schlaffe Lähmungen der Hinterhand, Zuckungen und Streckkrämpfe.
Die meisten Mäuse starben im Zeitraum von 8 - 18 Stunden. Jedoch war die Zeit von der Injektion bis zum Tode nicht dosisabhängig.
Spätere Todesfälle waren in weitaus geringerem Maße als bei den mit Lebendkeimen geimpften Tieren festzustellen. Führte die Intoxikation nicht zu einem letalen Ausgang, so erholten sich die Tiere in 12 - 18 Stunden. Die Erkrankung erfolgte also schneller und heftiger, dauerte aber nicht so lange.
Die Sektion der nach kurzer Zeit gestorbenen Mäuse ergab außer vereinzelten hochgradigen Milzschwellungen keine makroskopisch erkennbaren pathologischen Befunde.
Bei den nach 12 - 18 Stunden p.i. gestorbenen Tieren waren keine Unterschiede gegenüber den mit lebenden Keimen geimpften Tieren zu erkennen.
Die Mäuse zeigten das gleiche typische Bild:
Gelb-brauner bis rot-schwarzer, glasiger Dünndarm; gefüllter aufgegaster Magen; stark vergrößerte und geschwollene Milz; vergrößerte und brüchige Leber, Exsudation im Bauchraum, teilweise Verklebungen am After und den Augen. Die auf Conradi-Drigalski und Blutagarplatten angelegten Organausstriche zeigten kein Wachstum, ebenso wurden in Ausstrichpräparaten keine Bakterien festgestellt. Vereinzelt auftretendes Wachstum war auf Verunreinigung oder postmortales Eindringen von Bakterien infolge autolytischer Vor-

gänge zurückzuführen.

Prüfung auf Bildungsvermögen von Ektotoxin.
Es wurden 6 als stark endotoxisch erkannte Stämme untersucht (I 13, I 14, O 19, O 21, O 22, O 59).

Von 3 und 13 Tage bebrüteter , beimpfter Bouillon wurde nach dem Zentrifugieren (2o Min. bei 1o ooo UpM) der Überstand durch Seitz EK Filter Nr. 3 gegeben, auf Keimfreiheit geprüft und auf 2 Arten verabreicht,
a. o,2 u. o,4 ml des Filtrates an je 2 Mäuse;
b. o,o5 u. o,2 ml des im Exsikkator auf 1/4 eingeengten Filtrates an je 2 Mäuse.
Ergebnis: Die Prüfung von 3 bzw. 13 Tage alten Bouillonfiltraten auf das Vorhandensein von Ektotoxinen verlief in den allermeisten Fällen negativ. Nach relativ kurzer Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens erholten sich die Mäuse rasch. Es war mit den injizierten Mengen der nicht weiter behandelten, wie auch der auf 1/4 eingeengten Bouillonfiltrate nicht möglich, sicher Mäuse zu töten, obwohl diese Filtrate von erwiesenermaßen sehr stark endotoxischen Stämmen kamen und große Dosen verimpft wurden. Von 56 geimpften Mäusen starben 5 Tiere. Sie zeigten keine nervösen Erscheinungen und die Befunde bei den 5 gestorbenen Mäusen glichen denen der mit Endotoxin gespritzten Mäuse. Siehe auch Tabelle XIV.

b. Untersuchungen des Endotoxins.

Getrennte Prüfung von Bodensatz und Überstand des Endotoxins.

Stämme O 22 u. O 59 (13 Tage Bebrütungsdauer)
Stämme I 13, I 14, O 19, O 2o, O 21 u. O 59 (3 Tage Bebrütungsdauer).

Aufnahme des Toxinbodensatzes in aqua dest.

Durch diesen Versuch sollte geprüft werden, in welchem Maße das aus den zertrümmerten Zelleibern entstehende Endotoxin in das umgebende Medium diffundiert oder an die Trümmer gebunden bleibt.
Daher wurde das wie oben beschrieben gewonnene Endotoxin durch Zentrifugieren (3o Min. bei 1o ooo UpM.) in einen Bodensatz aus Zelltrümmern und das Suspensionsmittel getrennt. Der Bodensatz wurde anschließend wieder in der gleichen

Flüssigkeitsmenge aqua dest. aufgenommen. Beides, Überstand und erneut aufgeschwemmter Bodensatz, wurde in Dosen von o,2 und o,1 ml intravenös an je 2 Mäuse verimpft.
Ergebnis: Die Untersuchungen, die mit dem in Bodensatz und Überstand getrennten Endotoxin durchgeführt wurden, zeigten erhebliche Unterschiede in der toxischen Wirkung. Dabei spielte es keine Rolle, ob der Bodensatz aus einer 3-oder 13tägigen beimpften Bouillon stammte.
Der Überstand des Endotoxins wirkte bei allen Stämmen in der Menge von o,2 ml noch sicher tödlich. Selbst o,1 ml töteten in vielen Fällen 2 Mäuse. Auch im Bodensatz konnte eine, wenn auch geringe Toxizität festgestellt werden. Siehe auch Tabelle XV.

Prüfung der Endotoxinhaltbarkeit.

6 Stämme (I 14, O 21, O 54, O 57, O 59, O 62).

Die im ersten Versuch ermittelten toxischen Stämme wurden mit demselben Toxin nach verschieden langer Lagerung im Kühlschrank und Sterilitätsprüfung erneut untersucht. Je 1 Stamm nach 1, 3, 4 u. 5 Wochen; 2 Stämme nach 6 Monaten. Es wurden Mengen von o,2, o,4, o,6 u. o,8 ml an ein bis 2 Mäuse intravenös verimpft.
Ergebnis: Durch eine erneute Endotoxinverimpfung nach verschieden langer Lagerung im Kühlschrank konnte die Haltbarkeit des Toxins geprüft werden. Es ergab sich, daß das Toxin eine längere Haltbarkeit besitzt und bei 2 Stämmen selbst nach 6 Monaten seine Wirksamkeit nicht oder nur geringfügig eingebüßt hatte, Siehe Tabelle XVI.

Neutralisationsversuche.

Es wurden 4 bekannt endotoxische Stämme benutzt (I 14, O 22, O 59, O 63).

Technik:
Die für die Toxin- Antitoxinversuche benötigten Antiseren wurden durch Immunisierung von 4 Kaninchen (Nr. I 14, O 22, O 59, O 63) gewonnen.
Nach vorheriger Prüfung des Blutserums auf Freisein von Normalagglutininen erhielt jedes Kaninchen o,75 ml einer 1 Std. auf 100°C erhitzten Agarabschwemmung intravenös.

Die Abschwemmung wurde auf eine Dichte eingestellt, die einer Trübung von 3 ml einer 1%igen wässrigen Bariumchloridlösung in 97 ml einer 1%igen Schwefelsäure entsprach (Dichte III).
Nach 4 Tagen wurden von der gleichen Suspension 1,5 ml intravenös injiziert. Nach weiteren 4 Tagen erfolgte eine Prüfung auf Agglutination. Genügte der Agglutinations-Titer nicht, so erhielten die Tiere in Abständen von 4 Tagen noch je eine Injektion von o,75 und 1,o ml Kulturabschwemmungen der Dichte III intravenös (Kaninchen I 14 u. O 63). Die gewonnenen Seren wurden auf ihren Agglutinations-Titer getestet und in Mengen von o,2, o,4 u. o,6 ml an je 2 Mäuse verimpft. Alle Tiere blieben gesund.
Die Testflüssigkeiten wurden durch Abschwemmungen von Schrägagarröhrchen gewonnen, die auf die Dichte III eingestellt und mit Formalin zu o,2% versetzt wurden.
Die bei den Kaninchen erzielten Serumtiter und Kreuzagglutinationen sind in der Tabelle XVII dargestellt.
Danach ergaben homologe Stämme und Seren die höchsten Titer (O 22 = 1:5ooo; O 59 = 1:5ooo; O 63 = 1:64o; I 14 = 1:32o). Das Serum O 22 agglutinierte auch mit dem Stamm O 59 stark (1:64o). Andere zwischen heterologen Stämmen und Seren erzielte Agglutinationen waren nur geringgradig (1:1o - 1:4o).
Für die Toxin- Antitoxinversuche war es nötig, ein konzentrierteres Toxin zu gewinnen, da die Belastung der Mäuse durch zu große Injektionsmengen vermieden werden sollte.
So wurde wohl dasselbe Toxingewinnungsverfahren angewendet, zur Reduzierung der Gesamtmenge jedoch der aus 5o ml Bouillon nach 3tägiger Bebrütung abzentrifugierte Bodensatz nur in 5 ml physiol. Kochsalzlösung aufgenommen und dem Temperaturwechsel ausgesetzt.
Nach der Prüfung auf Keimfreiheit mit o,3 ml der Suspension, wurden Mengen von o,1 u. o,o5 ml an je 2 Mäuse intravenös verabreicht. Injektionen von o,o5 ml hatten noch eine sicher tödliche Wirkung.
Die Toxin- Antitoxinprüfung wurde an Mäusen wie folgt vorgenommen:
In 5 sterile Agglut.-röhrchen wurden je o,4 ml Toxin gegeben. Dazu kam in das 1. Röhrchen o,4 ml Antiserum, sodaß hier ein Verhältnis von 1:1 bestand.

Weitere o,4 ml Antiserum wurden mit der gleichen Menge physiol. Kochsalzlösung verdünnt und o,4 ml davon in das 2. Röhrchen gebracht (Toxin- Antitoxin-Verhältnis 1:o,5). Zu den restlichen o,4 ml kamen wieder o,4 ml Kochsalzlösung u.s.f. So entstanden Toxin-Antitoxin-Verdünnungen von 1:1, 1:o,5, 1:o,25, 1:o,125 u. 1:o,o6.
Nach gründlichem Schütteln wurden die Röhrchen 1 Std. bei 37°C bebrütet.
Darauf erhielten von den in jedem Röhrchen befindlichen o,8 ml 2 Mäuse je o,4 ml intravenös injiziert.

Ergebnis:

Die 4fache dosis letalis minima wurde von allen Seren bei einem Verhältnis von 1:1 neutralisiert. Bei Stamm I 14 trat in der nächsten Verdünnungsstufe ein Todesfall auf. Das Toxin des Stammes O 59 wurde noch in der 3., das des Stammes O 63 sogar in der 4. Verdünnungsstufe neutralisiert. Der Stamm O 22 wirkte in den bei ihm untersuchten Toxin-Antitoxin-Verdünnungen nicht mehr toxisch.

7. Spermaagglutination.

Die Untersuchungen wurden an allen Stämmen der drei Gruppen durchgeführt.

Technik:

Alle Stämme wurden durch eine Mäusepassage aktiviert. Aus den gestorbenen Tieren wurden von Leber und Milz auf Blutplatten Colikeime isoliert, die auf Haemolyse geprüft und gegebenenfalls in Subkulturen weitergeführt wurden. Die Kulturen wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.
Von einem Hund der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere wurde Sperma durch Penismassage gewonnen. Nach sauberer, fraktionierter Entnahme betrug das konzentrierte Sperma 1,4 ml des Gesamtejakulates von ca. 12 ml. (Über die Spermagewinnung beim Hund s. BIEDERMANN (6)).
Mit Hilfe einer Ery-Pipette und Hayem'scher Lösung wurde eine Spermaverdünnung von 1:1oo hergestellt und in der Zeiß-Thoma-Kammer ausgezählt. Dabei ergab sich ein Durchschnittswert von 1,325 Spermien pro Elementarquadrat, d.s. 53o ooo Spermien /mm^3 im unverdünnten Sperma.
Aus der Gleichung 53o ooo : 1 mm^3 = 6o ooo : X mm^3

= o,113mm^3 ergab sich, daß sich 1o ml Spermaverdünnung mit 6o ooo Spermien pro mm^3 aus 8,57 ml physiol.Kochsalzlösung, 1,13 ml Sperma und o,3 ml 1o%igem Formalin zusammensetzen.
Die Spermien lagen frei, Verschmutzungen waren nicht vorhanden.
Zur Prüfung der Spermaagglutination wurden Kulturabschwemmungen mit physiol. Kochsalzlösung auf bestimmte Dichten u. Keimzahlen eingestellt. Auf einem sauberen Objektträger wurden dann 1 Tropfen Sperma und 1 Tropfen der Keimsuspension mit einer Kapillare nach vorherigem Aufschütteln zusammengegeben. Mit einem Glasstab wurden beide gemischt und darauf der Objektträger geschwenkt.
Zur Kontrolle diente ein Gemisch von Sperma und physiol. Kochsalzlösung. Die Beobachtung erfolgte mit Objektiv 1o und 4o; Okular 8. Vor den täglichen Untersuchungen wurde die Spermaverdünnung auf Autoagglutination geprüft.

1. Zunächst wurde die von ROLLE u. KALICH (54) angegebene Technik und Methodik benutzt, wobei die Spermaagglutination mit den bekannt toxischen Stämmen bei einer Dichte vorgenommen wurde, die einer Trübung von 1 ml einer 1%igen wässrigen Bariumchloridlösung in 99 ml einer 1%igen Schwefelsäure (Dichte I), 1:2 mit aqua dest. verdünnt, entspricht.
   Zur Herstellung der Keimsuspensionen wurden die durch die Mäusepassage aktivierten Stämme verwendet.
   In gleicher Weise wurde mit den Stämmen der 3. Gruppe verfahren.

2. Danach wurden durch Abschwemmungen mit 1 ml physiol. Kochsalzlösung auf 1 Schrägagarröhrchen dichte Suspensionen hergestellt und agglutiniert.

3. Um festzustellen, ob eine Abhängigkeit von Coli- und Sperma-Suspension in den Mengenverhältnissen besteht, wurden ein spermapositiver und ein spermanegativer Stamm untersucht und zu je 1 Tropfen Spermasuspension 1, 2 u. 3 Tropfen Coliaufschwemmung gegeben. Umgekehrt zu je 1 Tropfen Aufschwemmung 1, 2 u. 3 Tropfen der Spermaverdünnung.

4. Im Hauptversuch wurde die Abhängigkeit der Agglutination von ausgezählten Keimverdünnungen untersucht. Hierzu wurden Abschwemmungen von eintägig bebrüteten Schrägagarröhrchen benutzt, die auf die Dichte III eingestellt wurden. Von diesen Keimsuspensionen hergestellte Verdünnungen 1:1, 1:2, 1:4 u.s.f. wurden bei 1:32 oder 1:46 ausgezählt, wie bei der Lebendkeimverimpfung angegeben. Die Keimzahlen wurden für die einzelnen Verdünnungen errechnet und die Suspensionen den Agglutinationsprüfungen unterzogen.
   Untersucht wurden alle Stämme der Gruppen 1 u. 2 und die bei dichter Aufschwemmung spermapositiven Stämme der 3. Gruppe.

5. Ferner wurde geprüft:
   a) Steriles Bouillonfiltrat nach 13 tägiger Bebrütung der Stämme O 22 und O 59.
   b) Kulturabschwemmungen der Dichte III, mit o,2%igem Formalin abgetötet, der Stämme I 14, O 59 u. O 63.
   c) Kochantigen der Dichte III von den Stämmen I 14, O 59 u. O 63.
   d) Gefriertoxin der Dichte III, auf die Hälfte eingeengt, von den Stämmen I 14, O 22, O 56, O 57 u. O 63.
   e) Verschiedene Laborstämme anderer Keimarten bei einer Dichte der Bakteriensuspension von III:
   Proteus vulgaris (/59); Klebsiella Friedländer (394/6o); Haemolyt.Streptokokk. (Gruppe A 115/22/6o); Haemolyt.Staphylokokk. (1o32); Salm. typh. mur.; Aerobacter aerogenes (5 Stämme); Alcaligenes faecalis.

6. Zur Feststellung des L-Antigens als Ursache der Agglutination wurden 3 spermapositive Colistämme untersucht. Abschwemmungen eintägig bebrüteter Agarplatten wurden auf die Dichte III eingestellt und davon Verdünnungen angelegt. Die Hälfte jeder Verdünnung wurde 1 Std. bei 6o°C im Wasserbad gehalten und dann bei Zimmertemperatur agglutiniert.

Ergebnisse:

Zu 1. Bei Colisuspensionen, die einer Dichte I, 1:2 mit aqua dest. verdünnt, entsprachen, konnte in keinem Falle eine Spermaagglutination erreicht werden. Siehe Tabelle XIX$_1$.

Zu 2. Bei den dichten Aufschwemmungen der Stämme trat eine mehr oder weniger starke Agglutination bei den meisten der toxischen Stämme in 15 Sek. bis 1 Min. ein (I 1, I 2, I 13, I 14, O 17, O 19, O 2o, O 21, O 5o - O 55, O 58, O 59, O 6o u. O 62). Siehe Tabelle XIX_2.

Zu 3. Eine Abhängigkeit von Sperma- u. Colisuspensionsmenge trat nicht hervor, sodaß Versuchsfehler, die durch ungleiche Tropfengröße bedingt sein könnten, ausgeschlossen wurden. Siehe Tabelle XXI.

Zu 4. Im Hauptversuch ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung mit den von BOTZ gefundenen Werten. Es muß jedoch dabei erwähnt werden, daß die zu den einzelnen Agglutinationsgraden gehörenden Keimzahlen erheblich schwanken können und selbst bei sehr hohen Keimzahlen (N 31, N 36, N 41; O 5o u. O 53) nur geringe Agglutinationen auftreten. Im ganzen liegen die von mir errechneten Keimzahlen für eine feststellbare Agglutination (+) etwas höher als die von BOTZ angegebenen.

Von den 24 Stämmen der Gruppen 1 u. 2 ergaben 18 eine Agglutination (75%). Von den aus gesunden Schweinen isolierten 12 Stämmen agglutinierten 6 (5o%). Dieses Verhältnis drückt jedoch nicht korrekt den Unterschied aus, da die Reaktionen der Colistämme aus der 3. Gruppe meist nur schwach waren und bei den toxischen Stämmen erheblich stärker ausfielen.

Würde die Agglutinationszeit gewertet, so könnten größere Unterschiede zwischen den Stämmen ermittelt werden. Einige, besonders O 59, agglutinierten fast augenblicklich bei dem kurzen Mischen und Schwenken, während andere 1/4 bis 1 Min. benötigten. Die negativen Fälle blieben auch bei längerer Beobachtung frei von Verklumpungen. Stellt man die im Endotoxinversuch gefundene Toxizität den Ergebnissen der Spermaagglutination gegenüber, so sind Übereinstimmungen nicht vorhanden.

6 spermanegative Stämme (I 14, O 18, O 22, O 56, O 57, O 63) waren im Tierversuch toxisch, davon bis auf den Stamm O 18 (schwach) alle sehr stark toxisch.

Von schwach agglutinierenden Stämmen (O 17, O 2o, O 5o, O 53,

O 54, O 6o, O 62) waren 2 (O 5o u. O 58) toxinnegativ, Stamm O 6o schwach toxisch, 3 Stämme (O 2o, O 53 u. O 62) zeigten eine mäßige bis starke Toxizität und 2 Stämme (O 17 u. O 54) waren sehr stark toxisch.
Von 3 Stämmen mit mittelstarker Agglutination (I 1, I 2, O 55) waren der Stamm I 2 stark, Stamm I 1 schwach und Stamm O 55 atoxisch.
Von den 7 stark agglutinierenden Stämmen (I 13, O 19, O 21, O 51, O 52, O 59 u. O 61) hatten 5 Stämme auch eine starke bis sehr starke Toxinwirkung. Stamm O 52 war schwach toxisch, Stamm O 51 bildete im Tierversuch kein Toxin.
Die Ergebnisse des Hauptversuches sind in der Tabelle XIX_4 aufgeführt.

Von den aus gesunden Schweinen isolierten Colistämmen agglutinierten 6 (N 31, N 33, N 35, N 36, N 38 u. N 4o). Bei 4 Stämmen fiel die Spermaagglutination nur schwach aus (N 31, N 35, N 36 u. N 4o), die Stämme N 33 u. N 38 agglutinierten hingegen stark. Siehe Tabelle XX.

Zu 5. Die mit verschiedenem Material (sterilem Bouillonfiltrat, Kulturabschwemmungen der Dichte III in o,2%igem Formalin, Kochantigen der Dichte III u. Gefriertoxin der Dichte III, auf die Hälfte eingeengt) unternommenen Agglutinationsproben waren sämtlich negativ.
Von den unter gleichen Bedingungen untersuchten anderen Keimarten reagierten der Proteus-, Salm. typh. mur.- und der haemolytische Staphylokokkenstamm negativ. Desgleichen 2 der Aerobacter aerogenes-Stämme. Der haemolytische Streptokokken- und der Alcaligenes faecalis-Stamm agglutinierten schwach. Der Klebsiella Friedländer-Stamm zeigte eine mittlere Agglutination, während 3 der Aerobacter aerogenes-Stämme stark reagierten.

Zu 6. Nach BOTZ soll die Spermaagglutination an das L-Antigen gebunden sein. Es mußte daher bei diesem Versuch erwartet werden, daß bei den 1 Stunde bei 6o° C im Wasserbad gehaltenen Suspensionen eine Agglutination ausblieb, da KAUFFMANN bei seinen Untersuchungen über das L-Antigen dessen Thermolabilität bei 6o° C festgestellt hatte. Die Untersuchungen

mit spermaagglutinierenden Colistämmen ergaben jedoch auch nach der Erhitzung positive Ergebnisse. Die Agglutinationen differierten nur um 1 - 2 Verdünnungsstufen von den Ausgangssuspensionen.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Aus den erzielten Ergebnissen kann gefolgert werden, daß sich die aus pathologischem Schweinematerial gewonnenen 24 Colistämme kulturell und in ihrer toxischen Wirkung ähnlich verhielten. Jedenfalls konnten erhebliche Unterschiede zwischen den 2o aus oedemkrankheitsverdächtigen Fällen (1. Gruppe) und den je 2 aus Enteritis- und Oedemkrankheitsfällen (2. Gruppe) stammenden Colibakterien nicht festgestellt werden.

Dagegen ließen die 24 Stämme sich in ihrer Gesamtheit in einzelnen Eigenschaften gut von den 12 aus gesunden Schweinen isolierten Colistämmen (3. Gruppe) unterscheiden im Hinblick auf die Verimpfung von lebenden Keimen, dem Bildungsvermögen von Endotoxinen, der Vermehrungsfähigkeit und der Spermaagglutination. Auch die vielfach festgestellte, in den Gruppen unterschiedliche Saccharosevergärung und haemolytische Wirkung bei den einzelnen Stämmen sind zwar ein konstantes Merkmal, aber kein Kriterium für die Toxizität.

So groß diese Unterschiede in den erwähnten Eigenschaften, gruppenweise betrachtet, waren, so wenig boten sie für sich eine sichere Unterscheidungsmöglichkeit, so daß die Ansicht KAUFFMANN's bestätigt wird, wonach alle Colibakterien bedingt pathogen sind.

Der auffallende Unterschied in der Spaltung von Saccharose, auf den in mehreren Arbeiten hingewiesen wird (KRÖGER u. GILLESEN, ROLLE u. KALICH, BOTZ), bietet keine Möglichkeit der Unterscheidung zwischen pathogenen und apathogenen Stämmen, da saccharosepositive Stämme sowohl apathogen und atoxisch sein konnten, wie auch umgekehrt.

Die von KRÖGER u. GILLESEN über diesen Fragenkomplex ange-

stellten Untersuchungen hatten das gleiche Ergebnis.

Ähnlich verhielt es sich mit der haemolytischen Wirkung der untersuchten Colistämme. Die Haemolyse allein ist kein sicheres Unterscheidungsmerkmal zwischen pathogenen und apathogenen Keimen, gibt aber einen Hinweis auf eine mögliche Pathogenität. Sie ist eine konstante Eigenschaft des Stammes, wie auch von SCHMIDT H., LODENKÄMPER, WOLF und anderen Autoren festgestellt worden ist.

Mit Hilfe des angewandten Zählverfahrens konnten für die aus pathologischem Material und gesunden Schweinen isolierten Colistämme Unterschiede in der Wachstumsrate nachgewiesen werden. Die Stämme der 3. Gruppe vermehrten sich langsamer, und aus dem Vergleich der Zählungen kann gefolgert werden, daß sie auch die Endwerte der Gruppen 1 u. 2 nicht erreichen werden.
Für genauere Aussagen wären häufigere Zählungen im gleichen Zeitraum notwendig gewesen, um den Verlauf der Wachstumskurven besser verfolgen zu können. Aber auch bei der Verimpfung von lebenden Keimen wurden für die gleiche Anzahl Keime bei den Stämmen der 3. Gruppe durchschnittlich größere Volumina Bouillonkultur benötigt, als bei denen der 1. und 2. Gruppe; eine Erscheinung, die auf ein langsameres Wachstum schliessen lässt.

Durch die in größerem Umfang durchgeführten subkutanen Injektionen von lebenden Colibakterien aus pathologischem Material an Mäusen konnte ermittelt werden, daß bei den injizierten Keimzahlen lediglich lokal begrenzte Reaktionen wie Kahlstellen, Entzündungen und Nekrosen der Haut hervorgerufen werden können. Bei den aus gesunden Schweinen isolierten Colistämmen war noch weniger damit zu rechnen, daß sie im Mäusetest toxische Ergebnisse zeigen würden. Auf eine Prüfung dieser Stämme wurde daher verzichtet.
Bei intraperitonealen Injektionen dagegen genügten schon kleine Keimzahlen bei den Stämmen aus pathologischem Material, um die Tiere an einer allgemeinen Sepsis zugrunde gehen zu lassen. Hier, wie auch bei der intravenösen Applikation von Endotoxinen, ergaben sich größere Unterschiede zwischen den Stämmen der einzelnen Gruppen, wie auch zwischen den Gruppen

selbst. Die Stämme der 1. u. 2. Gruppe erwiesen sich in den meisten Fällen als pathogen und toxisch, während bei den Vergleichsstämmen der Gruppe 3 nur vereinzelte Todesfälle auftraten.
Daraus kann jedoch nicht auf eine Übereinstimmung von Pathogenität und Toxizität geschlossen werden, da sowohl stark pathogene und schwächer toxische, als auch schwach pathogene, aber stark toxische Stämme ermittelt werden konnten. Lediglich die beiden Stämme O 50 u. O 51 (die beide aus zwei Ferkeln des gleichen Bestandes isoliert wurden) erwiesen sich als apathogen und atoxisch.

Nach den bei der Prüfung der Ektotoxinbildung erzielten Ergebnissen muss angenommen werden, daß ein Ektotoxin, wenn überhaupt, dann nur in sehr geringen und fast nie tödlichen Mengen gebildet wird. Diese Beobachtungen stimmen mit denen von PLANTENGA, ULBRICH, ENGLERT, WIEDERHOLD u. CIANTINI überein.

Untersuchungen des Endotoxins ergaben, daß dieses nach dem Aufschließen mit wechselnden Temperaturen in die Suspensionsflüssigkeit diffundiert. Dies war daraus zu ersehen, daß der Überstand stark und die Zelltrümmer nur noch gering toxisch wirkten. Zum gleichen Ergebnis kam WIEDERHOLD.
Die Endotoxin-Stabilität konnte durch erneute Prüfung der Toxine nach längerer Lagerzeit (bis 6 Monate) nachgewiesen werden. Hierin besteht Übereinstimmung mit ULBRICH, KAUFFMANN und anderen Autoren.

Die durch Immunisierung von Kaninchen hergestellten Antiseren neutralisierten die vier- und mehrfache tödliche Dosis von homologen Colitoxinen. Die von mehreren Autoren erzielten Ergebnisse konnten also bestätigt werden (BOUCKAERT, OYAERT u. SIERENS, TIMONEY, ROBERTS R.S. u.a.). Im Kreuzagglutinationstest wiesen homologe Seren und Stämme die höchsten Titer auf. Die bei einzelnen heterologen Stämmen auftretenden geringen Titer lassen auf bestehende Antigengemeinschaften schließen.

Bei der Untersuchung der von ROLLE u. KALICH zur schnelleren und sichereren Feststellung toxischer Colikeime em-

pfohlenen Spermaagglutination fielen die Ergebnisse trotz genauer Einhaltung der Versuchsbedingungen unterschiedlich aus.

Wenn auch die Zahl der spermaagglutinierenden Stämme aus pathologischem Material erheblich größer war als in der Gruppe der Colikeime aus gesunden Schweinen, und auch graduelle Unterschiede in den Agglutinationsergebnissen bestanden, so läßt sich doch nicht übersehen, daß mehrere aus gesunden Schweinen isolierte Stämme, die sich im Tierversuch atoxisch verhielten, stark spermapositiv reagierten.

Bei den von ROLLE u. KALICH angegebenen Verdünnungen der Keimabschwemmungen waren keine Agglutinationen zu beobachten. Dieses Ergebnis kann nur mit der sehr starken Verdünnung der Keimsuspensionen erklärt werden, denn schon BOTZ wies auf die Abnahme der Agglutination bei steigender Verdünnung hin. Dagegen kam es bei mit bestimmten Keimzahlen durchgeführten Agglutinationen zu Ergebnissen, die denen von BOTZ entsprechen.

Spermaagglutinierende Stämme gab es aber nicht nur bei Colistämmen, sondern auch bei anderen Keimarten, wie Klebsiella Friedländer, Aerobacter aerogenes, Alcaligenes faecalis und einem Streptokokkenstamm. Die Spermaagglutination ist somit keine spezifische Eigenschaft der Colibakterien.

Die Annahme von BOTZ, daß die Spermaagglutination an das L-Antigen gebunden wäre, konnte nicht bestätigt werden. Nach 1/2stündiger Erhitzung auf 60°C ist nach KAUFFMANN dieses Antigen zerstört. Die mit erhitzten Keimsuspensionen durchgeführten Spermaagglutinationen erbrachten jedoch deutlich positive Ergebnisse. Damit kann das L-Antigen nicht als Ursache der Spermaagglutination angenommen werden.

V. Zusammenfassung

1. 24 Colistämme, von denen 20 aus oedemkrankheitsverdächtigen Tieren und je 2 von Oedemkrankheits- und Enteritisfällen stammten, wurden im Vergleich zu 12 Colistämmen, die aus klinisch gesunden Absatzschweinen isoliert worden waren, auf ihre biochemischen, pathogenen, toxischen und spermaagglutinierenden Eigenschaften geprüft.

2. Das Vermögen, Saccharose zu spalten, ist kein sicherer Hinweis auf eine Pathogenität des betreffenden Colistammes.

3. Ein Zusammenhang von Haemolyse und Pathogenität besteht nicht, da sowohl unter den apathogenen Stämmen ß-haemolytische wie auch pathogene α- oder γ-haemolytische Stämme ermittelt wurden.
   Die haemolytische Eigenschaft der untersuchten Stämme änderte sich in einem Zeitraum von 2 Jahren nicht.

4. Chloramphenicol hemmte von allen geprüften Antibiotika am stärksten. Bis auf 4 Stämme wurden alle durch 25 γ/ml im Wachstum voll gehemmt und waren auch bei 0,8 γ/ml nicht resistent. Die Normalcoli verhielten sich ähnlich.

5. Durch die Prüfung der Wachstumsgeschwindigkeit von Colibakterien im Zählverfahren konnte bei den pathogenen Stämmen eine höhere Wachstumsrate festgestellt werden, die ungefähr das Doppelte der aus gesunden Schweinen isolierten Colistämme beträgt.

6. Subkutane Injektionen von 10, 15, 100, 150, 200 und 300 Millionen Colikeimen von Agar-, Blutagarplatten und Bouillonverdünnungen an Mäuse ergaben lediglich Kahlstellen und Nekrosen an den Einstichstellen in der Haut. Intraperitoneale Injektionen von 100, 50 und 25 Millionen Keimen aus Bouillonkulturen führten in vielen Fällen (68 von 144) unter dem Bild einer allgemeinen Sepsis in 12 bis 18 Std. zum Tode. Bei der zum Vergleich benutzten Gruppe traten nur vereinzelt (6 von 72) Todesfälle auf. Aus den gestorbenen Mäusen konnten durch biochemische Untersuchungen die gleichen Stämme isoliert werden.

7. Mit den nach dem Gefrier- und Wiederauftauverfahren hergestellten Toxinen konnten bei den untersuchten Stämmen

größere Unterschiede im Bildungsvermögen von Endotoxin ermittelt werden. 11 Stämme der 24 aus erkrankten Tieren gewonnenen wirkten sehr stark, 3 stark, 2 mäßig stark und 4 schwach toxisch. 4 Stämme waren atoxisch. Die Colistämme aus gesunden Schweinen erwiesen sich als schwach toxisch oder bildeten kein Endotoxin.
Eine Ektotoxinbildung konnte trotz Verabreichung großer Mengen von Bouillonfiltraten nicht sicher nachgewiesen werden.
Das Endotoxin war in großer Menge im Überstand und in geringer Menge in dem aus Zelltrümmern bestehenden Bodensatz nachweisbar.
Die Wirkung des Toxins wurde durch eine Lagerung bis zu 6 Monaten im Kühlschrank bei +4°C kaum beeinträchtigt.
Die an 4 Stämmen untersuchte Neutralisation der Endotoxine ergab, daß von allen homologen Seren die 4fache dosis letalis minima bei einem Verhältnis 1:1 neutralisiert wurde. Einige Seren neutralisierten noch bei Verdünnungen von 1:o,25. Homologe Seren und Stämme ergaben hohe Agglutinationstiter. Geringe Titer traten bei einigen heterologen Stämmen und Seren auf.

8. Die im Vergleich zur Toxinwirkung im Mäuseversuch geprüfte Spermaagglutination ergab keine Übereinstimmung der Ergebnisse. Die Methode erscheint daher nicht zur schnelleren Feststellung toxischer Colistämme geeignet. Von 6 spermanegativen Stämmen aus pathologischem Material waren 5 sehr stark, 1 schwach toxisch im Tierversuch. Von 7 stark agglutinierenden Colistämmen hatten 5 auch eine starke bis sehr starke Toxinwirkung, je 1 Stamm war schwach toxisch oder bildete kein Toxin.

Tabelle I. Merkmale der aus pathologischem Schweinematerial isolierten Colistämme.

1. Gruppe: Aus oedemkrankheitsverdächtigen Schweinen isolierte Stämme.

2. Gruppe: I1, I2 Gastroenteritisstämme; I13, I14 Oedemkrankheitsstämme.

Stämme:	017	018	019	020	021	022	050	051	052	053	054	055	056	057	058	059	060	061	062	063	I1	I2	I13	I14
Laktose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Beweglk.	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methylr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vog.Pr. Reakt.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacchar.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salizin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H_2S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat-Redukt.	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Gelatine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lackmus-milch	Rö Ge Re	Rö - -	Rö Ge -	Rö Ge -	Rö Ge Re	Rö Ge Re	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö - Re	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö - Re	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö - Re	- Ge ReP	Rö Ge ReP	- Ge Re

Erklärung: + = positive Reaktion Rö = Rötung Re = Reduktion

- = negative Reaktion Ge = Gerinnung P = Peptonisierung

Tabelle II. Merkmale der aus gesunden Absatzschweinen isolierten Colistämme (3. Gruppe)

Stämme:	N31	N32	N33	N34	N35	N36	N37	N38	N39	N40	N41	N42
Laktose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Beweglk.	–	+	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–
Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methylr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vog.-Pr. Reakt.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Koser	(+)	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacchar.	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salizin	–	–	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+
Urease	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
H_2S	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Nitrat-Redukt.	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	–	+
Gelatine	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Lackmusmilch	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö Ge ReP	Rö Ge Re	Rö Ge ReP	Rö Ge ReP

Erklärung: + = positive Reaktion
– = negative Reaktion
Rö = Rötung
Ge = Gerinnung
Re = Reduktion
P = Peptonisierung

A.-K. γ/ml	Stämme: 017	018	019	020	021	022	050	051	052	053	054	055	056	057	058	059	060	061	062	063	I1	I2	I13	I14
100,0	–	++	++	-	-	++	-	+	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	+	–
50,0	-	+++	++	-	-	+++	-	++	+	-	+	-	-	+++	++	-	+	-	+++	-	-	-	+	-
25,0	-	+++	++	-	-	+++	-	++	++	-	++	-	-	+++	++	-	+	-	+++	-	-	-	+	-
12,5	+	+++	+++	-	-	+++	-	++	++	-	+++	-	-	+++	++	-	++	+	+++	-	-	-	+	+
6,3	++	+++	+++	-	+	+++	++	+++	++	+	+++	-	-	+++	++	+	++	+	+++	+	+	-	+	+
3,2	++	+++	+++	+	++	+++	++	+++	++	+	+++	-	+	+++	++	++	+++	+	+++	++	+	+	++	+
1,6	++	+++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	++	+++	+	++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	++
0,8	++	+++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++

A.-K. γ/ml	Stämme: N31	N32	N33	N34	N35	N36	N37	N38	N39	N40	N41	N42
100,0	-	++	+	+	++	+	-	-	++	-	-	++
50,0	-	++	-	+	+++	++	-	-	++	-	-	+++
25,0	-	++	-	++	+++	++	-	-	++	-	-	+++
12,5	-	+++	-	++	+++	++	+	+	+++	-	-	+++
6,3	-	+++	+	+++	+++	+++	++	+	+++	-	-	+++
3,2	+	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	+++	-	+	+++
1,6	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++
0,8	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++

Tabelle IIIa u.b

Ergebnis der Resistenzprüfung gegen Oxytetracyclin (Terramycin Cela)

Erklärung: – = kein Wachstum
+ = geringes Wachstum
++ = mäßiges Wachstum
+++ = starkes Wachstum
A.-K. /ml = Antibiotikum - Konzentration in γ/ml

A.-K. γ/ml	Stämme: 017	018	019	020	021	022	050	051	052	053	054	055	056	057	058	059	060	061	062	063	I1	I2	I13	I14
100,0	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50,0	-	++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25,0	++	++	+++	-	-	+	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	+	+	-	-	++
12,5	++	+++	+++	++	+	++	++	+	++	+	++	+	+	+	-	++	++	++	+	+	+	+	-	++
6,3	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	+	+++	+++	++	+++	++	++	+	+++	+	++
3,2	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++	+	++
1,6	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	+	+++
0,8	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	+	+++

A.-K. γ/ml	Stämme: N31	N32	N33	N34	N35	N36	N37	N38	N39	N40	N41	N42
100,0	++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	-	-	+++
50,0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	-	-	+++
25,0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	++	+	+++
12,5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	++	+	+++
6,3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+++
3,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+++
1,6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
0,8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++

Tabelle IVa und b

Ergebnis der Resistenzprüfung gegen Streptomycin

(Dihydrostreptomycin Bayer)

Erklärung:
- = kein Wachstum
+ = geringes Wachstum
++ = mäßiges Wachstum
+++ = starkes Wachstum
A.-K. /ml = Antibiotikum-Konzentration in γ/ml

A.-K. γ/ml	Stämme: O17	O18	O19	O2o	O21	O22	O5o	O51	O52	O53	O54	O55	O56	O57	O58	O59	O6o	O61	O62	O63	I1	I2	I13	I14
1oo,o	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5o,o	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25,o	-	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
12,5	+	+	++	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	++	-	+	++	++	+	+	-	-
6,3	+	++	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	++	++	++	+	+	+
3,2	++	++	++	+	++	++	++	+	+	++	+	+	+	++	++	++	+	++	++	++	++	++	+	+
1,6	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	+	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	+	++
o,8	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+	++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	+	++

A.-K. γ/ml	Stämme: N31	N32	N33	N34	N35	N36	N37	N38	N39	N4o	N41	N42
1oo,o	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
5o,o	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
25,o	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-
12,5	++	++	+	-	++	+	++	-	-	-	-	-
6,3	++	++	+	+	++	+	++	-	+	+	-	+
3,2	++	++	++	++	++	+	++	-	+	+	+	+
1,6	++	++	++	++	+++	++	++	+	+	++	+	++
o,8	++	++	+++	++	+++	++	++	+	++	++	+	++

Tabelle Va u. b

Ergebnis der Resistenzprüfung gegen Chloramphenicol (Paraxin Boehringer)

Erklärung:
- **- = kein Wachstum**
- **+ = geringes Wachstum**
- **++ = mäßiges Wachstum**
- **+++ = starkes Wachstum**
- **A.-K. /ml = Antibiotikum- Konzentration in γ/ml**

Tabelle VI. **Ergebnisse der Resistenzprüfungen gegen verschiedene Antibiotika im Blättchentest.**

Stamm	Penic.	Streptom.	Tetrac.	Chlor-amph.	Oxy-tetrac.	Erythro-mycin
O 17	+++	+	++	+	++	+++
O 18	+++	+	+++	−	+++	+++
O 19	+++	++	+++	+++	+++	+++
O 2o	+++	+	++	+	++	+++
O 21	+++	−	++	+	++	+++
O 22	+++	−	+++	−	+++	+++
O 5o	+++	+	++	+	++	+++
O 51	+++	+	+++	+	+++	+++
O 52	+++	+	+++	+	+++	+++
O 53	+++	+	+++	+	+++	+++
O 54	+++	+	+++	+	+++	+++
O 55	+++	+	++	−	+	+++
O 56	+++	++	+	+	+	+++
O 57	+++	+	+++	+	+++	+++
O 58	+++	+	+++	+	+++	+++
O 59	+++	+	++	++	++	+++
O 6o	+++	+	++	+	+++	+++
O 61	+++	−	+++	+	++	+++
O 62	+++	+	+++	+	+++	+++
O 63	x	x	x	x	x	x
I 1	+++	+	++	+	++	+++
I 2	+++	−	++	+	+	+++
I 13	+++	−	+++	+	+++	+++
I 14	+++	+	+++	+	+++	+++

Erklärung:
- = kein Wachstum
+ = geringes Wachstum
++ = mäßiges Wachstum
+++ = starkes Wachstum
x = nicht geprüft

TabelleVIIa **Prüfung der Vermehrungsfähigkeit (1. und 2.Gruppe)**

Bakt.-Stamm Nr.	Vorprüfung Ø zahl Elem.□	Vorprüfung Keime/mm³ i.T.	Vorprüfung mm³ für 1o Mill. Keime	1.Nachprüfung Ø zahl Elem.□	1.Nachprüfung Keime/mm³ i.T.	2.Nachprüfung Ø zahl Elem.□	2.Nachprüfung Keime/mm³ i.T.
O 17	4,3	551	18	3,3	422	3,6	461
O 18	4,8	614	17	2,2	282	3,2	41o
O 19	7,4	947	11	3,o	384	2,7	346
O 2o	5,2	666	15	1,7	217	3,o	384
O 21	5,o	64o	16	4,1	525	4,8	614
O 22	4,8	614	17	2,o	256	3,2	41o
O 5o	4,o	512	2o	2,8	357	5,8	742
O 51	3,9	498	2o	1,9	243	4,6	589
O 52	4,o	512	2o	4,o	512	5,2	666
O 53	3,4	435	23	3,2	4o9	2,7	346
O 54	3,8	486	21	2,5	32o	3,5	448
O 55	2,1	269	37	2,1	269	2,7	346
O 56	5,3	678	15	2,7	346	3,6	461
O 57	3,3	422	23	2,8	351	2,4	3o7
O 58	3,o	384	27	2,6	333	2,5	32o
O 59	2,6	333	3o	3,5	448	4,6	589
O 6o	2,6	333	3o	2,9	371	5,2	666
O 61	4,3	551	18	2,8	359	3,2	41o
O 62	3,6	461	22	2,7	346	3,8	486
O 63	3,2	4o9	24	1,6	2o5	3,7	374
I 1	5,9	755	13	3,2	4o9	3,6	641
I 2	4,3	551	18	4,7	6o2	8,2	1o63
I 13	5,3	678	15	1,2	153	1,9	243
I 14	5,3	678	15	2,6	333	3,7	474

Erklärung: i.T. = in Tausend

Ø zahl / Elem.□ = Durchschnittszahl pro Elementarquadrat

Tabelle VIIb

Prüfung der Vermehrungsfähigkeit (3.Gruppe)

Bakt.-Stamm Nr.	Vorprüfung			1.Nachprüfung		2.Nachprüfung	
	Ø zahl / Elem.□	Keime / mm³ i.T.	mm³ für 1o Mill. Keime	Ø zahl / Elem.□	Keime / mm³ i.T.	Ø zahl / Elem.□	Keime / mm³ i.T.
N 31	3,4	551	23	1,6	2o5	3,o	384
N 32	3,7	474	21	1,7	211	3,4	551
N 33	5,2	666	15	2,o	256	3,6	461
N 34	3,6	461	22	1,6	2o5	2,9	371
N 35	2,6	333	3o	2,4	3o7	2,6	333
N 36	4,8	614	16	1,8	224	2,1	269
N 37	4,7	6o2	17	2,o	256	2,1	269
N 38	8,9	1139	9	1,6	2o5	1,6	2o5
N 39	2,8	351	29	1,2	154	1,7	218
N 4o	5,8	742	14	3,o	378	4,6	588
N 41	3,1	397	24	1,1	135	2,2	282
N 42	5,9	755	14	1,4	179	2,3	295

Erklärung: i.T. = in Tausend

Ø zahl / Elem.□ = Durchschnittszahl pro Elementarquadrat

Tabelle VIII

Lebendkeimverimpfung an Mäuse;
1oo Millionen Keime i p. von Agarplattenabschwemmungen

Stamm	017	018	019	02o	052	053	055	057	I2	I14
Injekt.-menge mm^3	122	13o	9o	85	135	124	19o	155	144	83
1. Maus	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
2. Maus	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Erklärung: + = Maus gestorben; - = Maus lebt;

Tabelle IX

Lebendkeimverimpfung an Mäuse;
1oo Millionen Keime i p. von Blutagarplattenabschwemmungen

Stamm	021	022	05o	059	06o	061	062	063	I1	I13
Injekt.-menge mm^3	115	8o	9o	11o	113	1o5	1o5	82	1oo	1o7
1. Maus	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
2. Maus	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Erklärung: + = Maus gestorben; - = Maus lebt;

Tabelle X

Lebendkeimverimpfung an Mäuse;
1oo Millionen Keime s c. aus Bouillonkulturen

Stamm	0 5o	0 51	0 52	0 53	0 54	0 55	0 56
Mäuse	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -
mm^3	116	14o	111	125	14o	122	1o2
Stamm	0 57	0 58	0 59	0 6o	0 61	0 62	0 63
Mäuse	- -	- -	- -	- -	- -	+ -	+ -
mm^3	125	15o	114	8o	1o2	115	185

Erklärung: + = Maus gestorben; - = Maus lebt;

Tabelle XI

Intraperitoneale Verabreichung von 100,50 u.25 Millionen Colikeimen aus Bouillonkulturen an Mäuse. (Stämme der 1.und 2. Gruppe)

	Stämme: 017	018	019	020	021	022	050	051	052	053	054	055	056	057	058	059	060	061	062	063	I1	I2	I13	I14
mm^3 Bouillonkult. f.100 Mill.Keime	115	115	122	110	256	330	86	170	130	175	190	85	200	204	167	100	220	240	204	232	122	100	130	135
1.Maus	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
gest.nach Std.	15	14	14	32	40	18			13	17	13	13	15	16	18	18	10	15	15	18	15	171	15	15
2.Maus	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	–	+	–	–	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+
gest.nach Std.	15	14	15	60	144	18			14	17		14			18	18	27	15	15	46			89	21
mm^3 Bouillonkult. f.50 Mill.Keime	55	55	60	55	130	90	45	85	65	83	95	40	100	100	75	57	40	50	60	110	60	50	65	70
1.Maus	+	–	–	+	–	–	–	–	+	+	+	–	+	–	+	+	–	+	+	+	+	+	–	+
gest.nach Std.	18			28					18	18	14		15		15	168		16	36	84	18	17		20
2.Maus	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	–	–	+	–	+	–	–	–	–
gest.nach Std.									18	72					30			92		84				
mm^3 Bouillonkult. f. 25 Mill.Keime	30	30	30	30	65	45	20	40	30	40	50	20	50	50	40	30	20	25	30	55	30	25	30	35
1.Maus	–	+	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	–	+	+	+	–	–	–	–
gest.nach Std.		24							16	20					15	17		18	18	84	26			
2.Maus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
gest.nach Std.										192														

Erklärung: + = Maus gestorben; – = Maus lebt

Tabelle XII

Intraperitoneale Verabreichung von 100,50 u.25 Millionen Colikeimen aus Bouillonkulturen an Mäuse. (Stämme der 3.Gruppe)

	Stämme: N 31	N 32	N 33	N 34	N 35	N 36	N 37	N 38	N 39	N 40	N 41	N 42
mm^3 Bouillonkult. f.100 Mill.Keime	110	290	125	110	220	150	165	180	300	180	245	230
1.Maus gest. nach Std.	—	—	—	—	—	—	+ 11	—	+ 11	+ 12	+ 11	—
2.Maus gest. nach Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+ 12	—	—
mm^3 Bouillonkult. f. 50 Mill.Keime	55	145	60	55	100	75	60	90	150	90	125	115
1.Maus gest. nach Std.	—	+ 13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.Maus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
mm^3 Bouillonkult. f. 25 Mill.Keime	30	75	50	50	55	40	40	45	75	45	65	60
1.Maus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.Maus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Erklärung: + = Maus gestorben; — = Maus lebt;

Tabelle XIIIa

Prüfung des Endotoxinbildungsvermögens im Mäuseversuch
Stämme der Gruppen 1. u. 2

Toxin-menge	Stämme: 0 17		0 18		0 19		0 2o		0 21		0 22		0 5o		0 51		0 52		0 53		0 54		0 55	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
o,8 ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
o,6 ml	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
o,4 ml	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
o,2 ml	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Toxin-menge	0 56		0 57		0 58		0 59		0 6o		0 61		0 62		0 63		I 1		I 2		I 13		I 14	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
o,8 ml	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
o,6 ml	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
o,4 ml	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
o,2 ml	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+

Erklärung: 1.= 1.Maus; + = Maus gestorben
2.= 2.Maus; - = Maus lebt

Tabelle XIIIb

Prüfung des Endotoxinbildungsvermögens im Mäuseversuch. Stämme der 3. Gruppe.

Toxin-menge	Stämme: N 31		N 32		N 33		N 34		N 35		N 36	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
o,8 ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
o,6 ml	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
o,4 ml	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
o,2 ml	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Toxin-menge	**N 37**		**N 38**		**N 39**		**N 4o**		**N 41**		**N 42**	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
o,8 ml	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
o,6 ml	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
o,4 ml	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
o,2 ml	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Tabelle XIV

Prüfung des Ektotoxinbildungsvermögens im Mäuseversuch. (Bouillonfiltrat-Injektionen)

Stämme	13 Tage bebr.		3 Tage bebrütet							
Toxin-menge	O 22	O 59	O 19	O 21	O 22	O 59	I 13	I 14
	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.
o,4 ml	+ -	- -	- -	- -	+ -	- -	+ -	- -
o,2 ml	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -

Bouillon-filtrat, auf 1/4 eingeengt	Toxin-menge	3 Tage bebrutete Stämme					
		O 19	O 21	O 22	O 59	I 13	I 14
		1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.	1. 2.
	o,2 ml	- -	- -	+ -	- -	- -	- -
	o,o5ml	- -	- -	+ -	- -	- -	- -

Erklärung: 1. = 1.Maus; + = Maus gestorben
2. = 2.Maus; - = Maus lebt

Tabelle XV

Prüfung von Bodensatz und Überstand des Endotoxins an Mäusen

Bebrütungsdauer	13 Tage				3 Tage							
	Toxinbodensatz in aqua dest. suspendiert											
Toxinmenge	0 22		0 59		0 19		0 21		0 22		0 59		I 13		I 14	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
o,2 ml	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
o,1 ml	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	Toxinüberstand															
o,2 ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
o,1 ml	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+

Tabelle XVI

Prüfung der Endotoxin-Haltbarkeit

Lagerung	1 Woche	3 Woch.	4 Woch.	5 Woch.	6 Monate			
Toxinmenge	0 59	0 57	0 54	0 62	0 21		I 14	
					1.	2.	1.	2.
o,8 ml	+	+	+	+	x	x	x	x
o,6 ml	+	+	+	+	x	x	x	x
o,4 ml	+	+	+	+	+	+	+	+
o,2 ml	+	+	-	+	+	-	+	+

Erklärung: 1. = 1.Maus; + = Maus gestorben
2. = 2.Maus; - = Maus lebt
x = nicht geprüft

Tabelle XVII

Agglutinationstiter und Kreuzagglutinationen bei mit den Stämmen O 22, O 59, O 63 und I 14 immunisierten Kaninchen

Anti-Serum	Test: O 22	O 59	O 63	I 14
O 22	1:5000	1:640	--	--
O 59	--	1:5000	--	1:10
O 63	--	--	1:640	--
I 14	--	1:10	1:40	1:320
Norm. Ser.	--	1:20	--	--
NaCl	trübe	trübe	trübe	trübe

Tabelle XVIII

Neutralisationsversuch homologer Seren und Toxine

Verhältnis	Mengen	Maus	Stämme I 14	O 59	O 63	O 22
1:1	0,2ml Tox. + 0,2 ml Antitoxin	1.Maus	-	-	-	-
		2.Maus	-	-	-	-
1:0,5	0,2ml Tox. + 0,1 ml Antitoxin	1.Maus	-	-	-	-
		2.Maus	+	-	-	-
1:0,25	0,2ml Tox. + 0,05 ml Antitoxin	1.Maus	+	-	-	≠
		2.Maus	+	-	-	≠
1:0,125	0,2ml Tox. + 0,025 ml Antitoxin	1.Maus	+	+	-	≠
		2.Maus	+	+	-	≠
1:0,06	0,2ml Tox. + 0,013 ml Antitoxin	1.Maus	+	+	+	≠
		2.Maus	+	+	+	≠

Erklärung: + = Maus gestorben ≠ = nicht geprüft
- = Maus lebt

Tabelle XIX

Ergebnisse der Sperma-Agglutination (Stämme der 1. u.2.Gruppe)

Stämme:	0 17	0 18	0 19	0 2o	0 21	0 22	0 5o	0 51	0 52	0 53	0 54	0 55	0 56	0 57	0 58	0 59	0 6o	0 61	0 62	0 63	I 1	I 2	I 13	I 14
1)von der Blutpl. D.I 1:2 verd.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2)dichte Aufschw. a.d. Röhrchen	+++	-	+++	+	+++	-	+++	+++	++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++	+++	-	+	-	+++	+++	+++	+
4) D.III Keime/mm³ ⁒	1,72	2,48	3,59	2,56	2,74	2,48	5,27	1,41	2,18	4,66	4,76	3,07	3,64	o,87	1,84	3,46	3,03	3,03	1,74	1,15	1,43	1,54	1,18	1,74
Agglutin.	++	—	+++	+ +	+++	—	+++	++	++	++	+++	+++	—	—	+++	+++	++	+++	+	—	++	++	++	—
1:1 Keime/mm³	o,86	1,24	1,79	1,28	1,37	1,24	2,64	o,7o	1,o9	2,33	2,38	1,54	1,82	o,44	o,92	1,73	1,51	1,51	o,87	o,58	o,71	o,77	o,59	o,87
Agglutin.	+	—	++	+	++	—	++	++	++	+	++	++	—	—	+	+++	++	+++	+	—	++	++	++	—
1:2 Keime/mm³	o,43	o,62	o,9o	o,64	o,86	o,62	1,32	o,35	o,55	1,16	1,19	o,77	o,91	o,22	o,46	o,86	o,76	o,76	o,44	o,29	o,36	o,39	o,3o	o,43
Agglutin.	+	—	++	—	++	—	+	++	++	+	++	++	—	—	+	+++	+	++	+	—	—	+	+	—
1:4 Keime/mm³	o,21	o,31	o,45	o,32	o,34	o,31	o,66	o,18	o,27	o,58	o,6o	o,38	o,5o	o,11	o,23	o,43	o,38	o,38	o,22	o,14	o,18	o,19	o,15	o,22
Agglutin.	—	—	+	—	++	—	+	+	+	—	+	+	—	—	+	++	—	++	—	—	—	—	+	—
1:8 Keime/mm³	o,1o	o,16	o,23	o,16	o,17	o,16	o,33	o,o9	o,14	o,29	o,3o	o,19	o,23	o,o5	o,12	o,22	o,19	o,19	o,11	o,o7	o,o9	o,1o	o,o7	o,11
Agglutin.	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	+	—	—	—	—	—	—
1:16 Keime/mm³	o,o5	o,o8	o,11	o,o6	o,o9	o,o8	o,16	o,o4	o,o7	o,15	o,15	c,1o	o,11	o,o3	o,o6	o,11	o,o9	o,o9	o,o5	o,o4	o,o5	o,o5	o,o4	o,o5
Agglutin.	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—
1:32 Keime/mm³	o,o3	o,o4	o,o5	o,o4	o,o4	o,o4	o,o8	o,o2	o,o4	o,o7	o,o7	o,o5	o,o6	o,o1	o,o3	o,o5	o,o5	o,o5	o,o3	o,o2	o,o2	o,o3	o,o2	o,o3
Agglutin.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1:64 Keime/mm³	X	X	o,o3	X	X	X	o,o4	X	X	o,o4	o,o4	X	o,o3	X	X	o,o3	o,o2	o,o2	o,o1	X	X	X	X	X
Agglutin.			—				—			—	—		—			—	—	—	—					

Erklärung: +++ = starke Agglutination
++ = mäßige Agglutination
+ = schwache Agglutination
- = keine Agglutination

x = keine Agglutination durchgeführt
D.I = Dichte I
D.III = Dichte III
⁒ = Keime in Millionen

Tabelle XX

Ergebnisse der Sperma-Agglutination (Stämme der 3.Gruppe)

Stämme:		N 31	N 32	N 33	N 34	N 35	N 36	N 37	N 38	N 39	N 4o	N 41	N 42
1)von der Blutpl. D.I 1:2 verd.		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2)dichte Aufschw. a.d. Röhrchen		+	-	+++	-	++	++	-	+++	-	+	-	-
4) D.III	Keime/mm³ (Millionen)	3,4	x	1,15	x	1,69	2,3	x	2,51	x	o,97	x	x
	Agglutin.	+		++		+	+		+++		+		
1:1	Keime/mm³	1,7	x	o,5	x	o,85	1,15	x	1,25	x	o,49	x	x
	Agglutin.	+		++		+	+		+++		+		
1:2	Keime/mm³	o,9	x	o,3	x	o,42	o,58	x	o,63	x	o,24	x	x
	Agglutin.	-		++		-	+		++		-		
1:4	Keime/mm³	x	x	o,14	x	x	o,29	x	o,31	x	x	x	x
	Agglutin.			+			-		++				
1:8	Keime/mm³	x	x	o,o7	x	x	x	x	o,15	x	x	x	x
	Agglutin.			-					+				
1:16	Keime/mm³	x	x	x	x	x	x	x	o,o7	x	x	x	x
	Agglutin.								-				

Erklärung: +++ = starke Agglutination; x = keine Agglutination durchgeführt;
++ = mäßige Agglutination;
+ = schwache Agglutination; D.I = Dichte I;
- = keine Agglutination; D.III = Dichte III;
Millionen = Keime in Millionen

Tabelle XXI

Mengenvergleich von Sperma- und Colibakterien-Suspensionen bei der Agglutination

N 32 (-)	je 1 Tropf. Spermasusp.	1 Tropf.N32 Susp. -	2 Tropf.N32 Susp. -	3 Tropf.N32 Susp. -
	je 1 Tropf. N32 Susp.	1 Tropf.Spermas. -	2 Tropf.Spermas. -	3 Tropf.Spermas. -
N 33 (+)	je 1 Tropf. Spermasusp.	1 Tropf.N33 Susp. + + +	2 Tropf.N33 Susp. + + +	3 Tropf.N33 Susp. + + +
	je 1 Tropf. N33 Susp.	1 Tropf.Spermas. + + +	2 Tropf.Spermas. + + +	3 Tropf.Spermas. + + +

Erklärung: +++ = starke Agglutination; - = keine Agglutination;

Tabelle XXII

Spermaagglutination verschiedener Laborstämme anderer Keimarten bei einer Dichte III .

Proteus vulg. /59	-
Klebs.Friedl.394/60	++
Haemol.Streptokokk. Gruppe A 115/22/60	+
Haemol.Staphylok. albus 1032	-
Salm.typhimurium	-

Aerobacter aerogenes 1	+++
" " 2	+++
" " 3	+++
" " 4	-
" " 5	-
Alcaligenes faec.	+

Tabelle XXIII

Abhängigkeit der Spermaagglutination vom L-Antigen

Stamm	D.III	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
O 21	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
N 38	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
O 59	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
	Nach einstündigem Erhitzen auf 60°C									
O 21	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
N 38	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-
O 59	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-

Erklärung: +++ = starke Agglutination
++ = mäßige Agglutination
+ = schwache Agglutination
- = keine Agglutination
D.III = Dichte III

LITERATURVERZEICHNIS

1. Adam, A. — Der heutige Stand der Dyspepsiekoliforschung. Dtsch.med.Wschr. 78, 125o (1953)

2. Austvoll, J. — Gut edema in pigs. Vet.Med. 53, 349 (1958)

3. Bauer, W. — Die Bedeutung des Bakt. coli bei Erkrankungen der Geschlechtsorgane und der Milchdrüse. Wien.tierärztl.Mschr. 42, 273 (1955)

4. Baumgärtel, T. — Klinische Darmbakteriologie für die ärztliche Praxis. Stuttgart:Verl.Thieme 1954

5. Besredka — (zit. nach Brandl)

6. Biedermann, H. — Gewinnung, Beschaffenheit und Verdünnung des Spermas vom Hund. Hannover Vet.-med.Diss. 1951

7. Börger, K. — Die Ödemkrankheit des Schweines. Berl.Münch.tierärztl.Wschr. 71, 293 u. 316 (1958)

8. Boivin u. Mesrobeanou — (zit. nach Hallauer)

9. Bosold, H. — Untersuchungen über die kausale und formale Genese der sogenannten Oedemkrankheit (Enterotoxaemie) des Schweines. München Vet.-med.Diss. 1959

1o. Botz, F. — Experimentelle Untersuchungen über spermaagglutinierende und toxische Eigenschaften der Colikeime. München Vet.-med.Diss. 1956

11. Bouckaert, J.H. W. Oyaert u. R. Sierens — Gutoedem beim Schwein. Dtsch.tierärztl.Wschr. 67, 349 (196o)

12. Brandl, B. — Über Colitoxine. München Vet.-med.Diss. 195o

13. Braun, O.H., G. Resemann u. Ch. Stöckle — Untersuchungen über die Tierpathogenität der Dyspepsie-colibakterien. Zschr.Hyg. 137, 581-61o (1953)

14. Bronsch, K. u. P. Kämpf — Therapieversuche zur Bekämpfung der Oedemkrankheit. Dtsch.tierärztl.Wschr. 67, 88 (196o)

15. Catel, W. u. G. Pallaske — Über die experimentelle Erzeugung einer Enteritis durch Kolibakterien. Jb.Kinderhk. 139, 165 (1933)

16. Ciantini, F. — Les composes endotoxiques du B. coli et leur aptidude immunisante Zbl.Bakt.Abt.I. Ref. 135, 399 (194o)

17. Demnitz, A. u. W. Scholz — Die Wertbestimmung des antitoxischen Coliserums. Klin.Wschr. 15, 3o2 (1936)

18. Englert, H.K. — Colibakterien als Saprophyten und Infektionserreger bei Haustieren. Dtsch.tierärztl.Wschr. 62, 86 u. 211 (1955)

19. Erskine, R.G., W.J. Sojka u. M.K. Lloyd — The experimental reproduction of a syndrom indistinguishable from the oedema disease. Vet.Rec. 69, 3o1 (1957)

2o. Fey, H. — Coliprobleme bei Mensch und Tier. Schweiz.Arch.Tierhk. 97, 118 (1955)

21. Flückiger, U. u. A. Hofer — Die Bekämpfung ödematöser Zustände bei Nutz-Tieren mit einem neuen Diuretikum Schweiz.Arch.Tierhk.1o2, 27 (196o)

22. Goldschmidt, R. — Koliendotoxinversuche. Jb.Kinderhk. 133, 346 (1931)

23. Grasset — (zit. nach Hallauer)

24. Gregory, D.W. — Role of beta-hemolytic coliform organisms in edema disease of swine. Vet.Med. 5o, 6o9 (1955)

25. Gregory, D.W. — A review of the newer developments in edema disease of swine. Vet.Med. 52, 252 (1957)

26. Greuner, H.E. — Einige Literaturbetrachtungen sowie Praxisbeobachtungen zur Oedemkrankheit der Schweine. Hefte Vet.med. 16, 137 (1961)

27. Gross, H. — Über Colitoxine. Zbl.Bakt.Abt. I. Orig.111, 317 (1929)

28. Habs, H. — Bakteriologisches Taschenbuch 37.Aufl. Leipzig: Verl. Barth 1956 S.165

29. Hagen, D. — Beitrag zur Oedemkrankheit (Gut disease) der Schweine. Mhefte Vet.med. 11, 58o (1956)

3o. Hahn, H. J. Klocmann u. E. Moro — Experimentelle Untersuchungen zur endogenen Infektion des Dünndarms. Jb.Kinderhk. 84, 1o (1916)

31. Hallauer, C. — Über die immunologische Vielheit der Colitoxine. Zschr.Hyg. 123, 48o (1942)

32. Harvey, D.G. u. Ph. Carne — Studies on some chemical aspects of the pathological activities of strains of Escherichia coli of bovine origin. J.Comp.Path. Vol. 7o No.1 Jan. 196o S. 84

33. Hess, E. u. P. Suter — Die Oedemkrankheit des Schweines. Schweiz.Arch.Tierhk. 1oo, 653 (1958)

34. Hidiroglou, M. — Quelques observations sur le traitement de la maladie de l' oedème du porc. Recueil méd.vét. 13o, 789 (1954) Ref. in: Mhefte Vet.med. 11, 41 (1956)

35. Hohorst, H.J. — Über das Ektotoxin von Bakt.coli Zschr.Hyg. 136, 159 (1953)

36. Jahn, W. — Sammelreferat: Über die Oedemkrankheit des Schweines. Die blauen Hefte für den Tierarzt 1959 S.99

37. Kauffmann, F. — Über die Bedeutung der E.coli-Typen für die Beurteilung der Darmflora. Dtsch.med.Wschr. 97, 1o33 (1954)

38. Khouvine u. Soeters — (zit. nach Brandl)

39. Köhler, H. — Zur sogenannten Oedemkrankheit des Schweines. Dtsch.tierärztl.Wschr. 64, 37 (1957)

4o. Kraus, H. — Zum Schnellnachweis pathogener Colitypen (Dyspepsiecoli) in Milch und Säuglingsstuhlproben. Arch.Lebensmittelhyg. 7, 174 (1956)

41. Kröger, E. u. J. Gillesen — Zur Differenzierungsmöglichkeit pathogener Colibakterien Zbl.Bakt. Abt.I, Orig. 155, 115 (195o)

42. Lemcke, R.M., D.B. Bellis u. A. Hirsch — Preliminary observations on the relation of escherichia coli to gut oedema of baby pigs. Vet.Rec. 69, 601 (1957)

43. Lodenkämper, H. — Über Colitoxine. Zbl.Bakt. Abt.I.Orig. 145, 1 (1940)

44. Luke, D. u. W.A.M. Gordon — Observations on some pig diseases Vet.Rec. 62, 179 (1950)

45. Magheru, G. u. H. Creanga — Recherches sur la virulence et la toxicité de quelques colibacilles. Zbl.Bakt. Abt.I Ref. 116, 286 (1935)

46. Müller, A. u. Ch. Törschner — Untersuchungen über Differenzierungsmöglichkeiten apathogener und pathogener Colibakterien. Zbl.Bakt. Abt.I.Orig. 163, 305 (1955)

47. Nissle, A. — 1) Die normalen Darmbakterien und ihre Bedeutung für den Organismus.
2) Die Colibakterien und ihre pathogene Bedeutung.
in: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 3.Aufl. Hrsg.von W.Kolle, R. Kraus u. P. Uhlenhut. Jena:Verl. Fischer u. Bln.,Wien:Verl. Urban u. Schwarzenberg 1929
1) S.391; 2) S.451.

48. Plantenga, B.B.B. — Das Kolitoxin. Jb.Kinderhk. 129, 253 (1930)

49. Plantenga, B.B.B. — Aetiologie und Pathogenese der sogenannten alimentären Intoxikation. Jb.Kinderhk. 109, 195 (1925)

50. Reichel, K. — Klinische Untersuchungen zur Ödemkrankheit des Schweines. Dtsch.tierärztl.Wschr. 67, 346 (1960)

51. Roberts, H.E. u. P.F. Valleny — An investigation into the relationship of haemolytic E.coli to disease in pigs. Vet.Rec. 71, 846 (1959)

52. Roberts, R.S. — Endotoxin of Bakt.coli J.Comp.Path. 59, 284 (1949)

53. Rolle, M. — Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre. 2.Aufl. Stuttgart: Verl. Enke 1958 S. 84

54. Rolle, M. u. J. Kalich — Zur Diagnose der toxischen Kolikeime durch Agglutination der Spermazellen. Münch.Med.Wschr. 96, 579 (1954)

55. Schmidt, E. (zit. nach Müller u. Törschner)

56. Schmidt, H. Coliinfektionen. Behringwerk-Mitteilungen. Heft 14 (1942)

57. Schreier, K. u. E. Ruthe Untersuchungen zum Aminosäurenstoffwechsel pathogener und apathogener Colistämme. Zbl.Bakt. Abt.I, Orig. 163, 154 (1955)

58. Stamatovic, S. u. B. Mikajlovic (zit. nach Greuner)

59. Timoney, J.F. Oedema disease in swine. Vet.Rec. 68, 849 (1956)

6o. Ulbrich, F. Serologische Typendifferenzierung und Prüfung toxischer und immunisierender Eigenschaften von E.colistämmen, die von gesunden und von an Coliruhr erkrankten Jungtieren isoliert wurden. Berlin, Freie Univ., Vet.-med. Habil.-Schr. 1954

61. Vincent, H. Les toxines du bacillus coli bases expérimentales de la sérothérapie colibacillaire. Press.méd. 33, 791 (1925)

62. Wiederhold, G. Toxizitätsprüfungen an aus Mastitisfällen des Rindes isolierten coliformen Bakterien. Berlin, Freie Univ., Vet.-med.Diss.1957

63. Wolf, J. Über Differenzierung und Toxinbildungsvermögen von Colibakterien. Zbl.Bakt. Abt.I.Orig. 148, 183 (1942)

64. Zeller, M. u. G. Kielwein Ein Beitrag zur Oedemkrankheit des Schweines. Tierärztl. Umschau 12, 26o (1957)

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. HARTWIGK, möchte ich zum Schluß meiner Arbeit meinen herzlichen Dank für die Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit aussprechen.

Ferner gilt mein Dank Herrn Professor Dr. L.F. MÜLLER und Herrn Reg.-Vet.-Rat Dr. WESTPHAL, Leiter des Staatl. Vet.-Untersuchungsamtes Oldenburg, für die Überlassung von Untersuchungsmaterial.

Ebenso möchte ich mich bei allen Angestellten des Institutes für die freundliche Aufnahme und die erwiesene Hilfsbereitschaft bedanken.

Lebenslauf

Am 29. März 1928 wurde ich, Axel Thunert, als Sohn des Diplom-Gartenbauinspektors Alfred Thunert und seiner Ehefrau Eva, geb. Rudolph, in Naumburg /Saale geboren.

Von Ostern 1934 bis 1938 besuchte ich die Volksschulen in Elstal b. Berlin, Berlin-Pankow, Berlin-Waidmannslust und ab 1938 bis zum Ende des Krieges die Humboldt-Oberschule für Jungen in Berlin-Tegel.

Da ein Abschluß meiner Schulbildung nicht möglich war, begann ich 1947 eine Gärtnerlehre und arbeitete nach deren Beendigung 1949 in 2 Gärtnereien in Niedersachsen.

Von April 1952 bis März 1954 hatte ich im Braunschweig-Kolleg in Braunschweig die Gelegenheit, mein Abitur nachzuholen.

Im Herbst 1954 begann ich mein Studium an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin, das ich Anfang März 1960 mit dem Staatsexamen beendete.

Seit dieser Zeit bin ich am Institut für Vet.-Hygiene der Freien Universität als wissenschaftlicher Mitarbeiter tätig.